

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента на диссертационную работу  
Пиняевой Анастасии Николаевны «Разработка процессов очистки  
инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов  
Сэбина», представленную на соискание учёной степени кандидата  
биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология»**

### **Актуальность темы диссертации**

Полиомиелит — это неизлечимое, острое антропонозное инфекционное заболевание. Инфекция может протекать бессимптомно, проявляться в виде респираторных или кишечных заболеваний. Возможны неврологические формы заболевания: бульбарная острая паралитическая, мышечный паралич и постоянное повреждение центральной нервной системы. Полиомиелит является контролируемой инфекцией. В соответствии с рекомендациями ВОЗ иммунизацию против полиомиелита проводят с помощью двух доступных вакцин: инактивированной формалином полиовирусной вакциной Солка, приготовленной из диких штаммов вируса (ИПВ), и пероральной (живой) полиовирусной вакциной (ППВ), приготовленной из аттенуированных штаммов Сэбина.

Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано применение двух или более доз ИПВ при первичной плановой иммунизации. Планируется впоследствии применять только ИПВ. Таким образом, встает вопрос о возможности производства необходимого количества такой вакцины. До сих пор производство требуемого объема инактивированной вакцины для профилактики полиомиелита в мире не налажено.

Согласно Национальному календарю профилактических прививок России иммунизацию против полиомиелита проводят с помощью двух типов вакцин ППВ и ИПВ. С 2022 года вакцинация детей против полиомиелита состоит из четырех иммунизаций ИПВ и двух приемов ППВ. До 2022 года схема иммунизации была две прививки ИПВ и четыре ППВ.

Во ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) налажен полный цикл производства ППВ. В то же время все вакцины, содержащие полиомиелитный инактивированный компонент и применяемые в России произведены за рубежом (Пентаксим, Инфантрикс Гекса) или произведены из зарубежного сырья (Полимилекс).

Диссертационная работа Анастасии Николаевны Пиняевой «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» имеет высокую актуальность.

### **Краткая характеристика основного содержания диссертации**

Диссертационная работа имеет традиционную структуру. Работа изложена на 124 страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы – материалы и методы, двух глав, описывающих хроматографические очистки концентратов полиовируса, главы о разработке технологии получения и контроле качества инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина. Результаты клинических исследований разработанной вакцины ПолиовакСин описаны в отдельной главе. Также в диссертации есть обязательные традиционные разделы: заключение, перспективы дальнейшей разработки темы, выводы, список сокращений, условных обозначений, список литературы. Список литературы включает 113 источников. Работа иллюстрирована 21 таблицей и 27 рисунками.

В главе «Введение» автором подробно обоснована актуальность работы, цель и задачи проводимого исследования, научная новизна и значимость полученных результатов. Все запланированные задачи соответствовали цели исследования и были выполнены.

Обзор литературы состоит из 7 подразделов. В обзоре литературы грамотно освещена история создания вакцин для профилактики полиомиелита, представлены современные сведения о состоянии Глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита и стратегии ВОЗ по его профилактике. Также представлены сведения о производстве инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина в мире, информация о вакцинопрофилактике полиомиелита в РФ.

Значимость и достоверность научных результатов, полученных в ходе выполнения исследований, во многом определены использованием современных методов исследования, которые описаны в главе «Материалы и методы». Использование современных лабораторных методов (вирусологических, молекулярно-биологических, серологических, иммунологических) позволило в полной мере решить поставленные задачи.

Результаты собственных исследований и обсуждение их результатов представлены в четырех главах. В главе «Гель-фильтрация концентратов полиовируса» и главе «Ионообменная хроматография концентратов полиовируса» представлены результаты подбора условий для проведения хроматографических очисток. Для анализа полученных результатов были разработаны критерии оценки эффективности проводимых процессов. Для оценки степени извлечения целевого антигена Пиняева А.Н. определила концентрацию D-антигена, а для оценки степени очистки полученного вирусного материала - содержание остаточной клеточной ДНК, общего белка. Оценку выхода вирусных частиц в ходе хроматографического разделения, путём определения содержания вирусной РНК, титра полиовируса, содержанием вирусного структурного белка VP2. Для подбора сорбента для

проведения гель-фильтрации Пиняевой А.Н. были проанализированы сорбенты с разным диапазоном фракционирования, а в описании условий проведения ионообменной хроматографии - слабые и сильные анионообменные сорбенты. Очистки вирусных суспензий проводились как в градиентном, так и в изократическом режимах.

В главе «Разработка технологии получения и контроля качества ИПВ на основе штаммов Сэбина» Пиняевой А.Н. суммированы уже имеющиеся и свои разработки. Диссертантом также было сделано описание всех стадий технологического процесса получения инактивированной вакцины на основе штаммов Сэбина с описанием контроля качества на всех стадиях хроматографических очисток.

Целью диссертационного исследования Пиняевой А.Н. являлась разработка высокоэффективных технологичных процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина и получения доказательств безопасности, иммуногенности вакцин, производимых по новой технологии. Результаты клинических исследований (6 глава) демонстрируют хорошую переносимость, низкую реактогенность, высокий профиль безопасности и выраженные иммуногенные свойства новой разработанной вакцины. Важным выводом явилось то, что антитела, индуцируемые новой вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина, могут нейтрализовать не только штаммы Сэбина, но и дикие штаммы полиовируса.

В главе «Заключение» А.Н. Пиняева оценила полученные результаты своего исследования с привлечением данных, опубликованных в других научно-исследовательских работах, кратко суммировав основные результаты всей работы.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. – «Вирусология».

### **Обоснованность и достоверность полученных результатов**

Обоснованность и достоверность научных выводов и положений диссертационной работы обеспечивается точным выбором методов исследования и большим их объёмом.

Основные результаты диссертационного исследования полностью отражены в печати. По теме диссертации 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 диссертации были представлены и обсуждены на различных международных научных конференциях.

Все выводы и практические рекомендации по диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и поставленным задачам.

### **Научная новизна выполненной работы**

Автором разработаны научно обоснованные хроматографические очистки (гель-фильтрация и ионообменная хроматография) концентратов полиовирусов штаммов Сэбина трех типов, которые стали применяться в технологии производства отечественной инактивированной вакцины для профилактики полиомиелита. В ходе проведенного исследования установлено, что максимальная степень извлечения целевого антигена при очистке от технологических примесей препаратов вакцинных штаммов полиовирусов с помощью ионообменной хроматографии обеспечивается при рН элюирующего буферного раствора, близком к изоэлектрической точке вирионов соответствующих штаммов.

### **Практическая значимость работы**

Автором предложены процессы проведения хроматографических очисток, которые позволяют получать моновалентные концентраты с высокой степенью извлечения антигена при минимальном содержании технологических примесей. Разработанные процессы стали частью технологии производства инактивированной вакцины против полиомиелита ПолиовакСин, которая успешно прошла клинические исследования, доказав свою безопасность, иммуногенность, которые безусловно смогут обеспечить и высокую эффективность при массовом применении.

### **Замечания по диссертационной работе:**

1. Возможна ли реверсия вакцинных штаммов Сэбина у полиовируса?
2. Видите ли, Вы дальнейшую возможность повышения безопасности новой ИПВ?
3. Чем можно заменить раствор формалина в новой полиовирусной вакцине?
4. Для оценки антигенности новой полиовирусной вакцины Вы не использовали ИФА, а это дало бы дополнительную информацию, почему?
5. Сколько антибиотиков и каких содержится в разработанной вакцине?

Тем не менее, перечисленные выше замечания не снижают высокой значимости диссертационной работы и полученных результатов.

### **Заключение:**

Таким образом, 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 является законченной научно-квалификационной работой по актуальности, научной новизне и практической значимости результатов, объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям в пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; с изменениями в действующей ред. от 18.03.2023 г.), а ее автор Пиняева Анастасия Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология».

**Официальный оппонент:**

главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний отдела вирусологии им. О.Г. Анджаридзе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

доктор биологических наук  
эл. почта: yuminova@mail.ru,  
телефон: +79104229706

Юминова Надежда Васильевна

Подпись д.б.н. Юминовой Н.В. заверяю.

Учёный секретарь, кан. биол. наук  
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова



Алаторцева Галина Ивановна

«27» ноября 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии наук, 105064, Российская Федерация, Москва, Малый Казенный пер, дом 5А. Тел.: +7 (495) 917-49-00. Факс +7 (495) 917-49-00, <http://www.instmech.ru/>, e-mail: [mech.inst@mail.ru](mailto:mech.inst@mail.ru)