

О результатах публичной защиты диссертации

ПИНЯЕВОЙ Анастасии Николаевны

диссертация на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» по специальности 1.5.10. – «Вирусология», на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационный совет 24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) принял решение о присуждении ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.10. – «Вирусология» Пиняевой Анастасии Николаевне (Протокол № 20 от 15 декабря 2023 года).

Присутствовали: Ишмухаметов А.А. д.м.н., профессор, академик РАН (1.5.10. –Вирусология), Ткаченко Е.А. д.м.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Белякова А.В. к.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Егоров А.М. д.б.н., профессор, академик РАН (1.5.10. –Вирусология), Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. –Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. –Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. –Вирусология), Васин А.В. д.б.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Никитин Н.А. д.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Борисевич И.В. д.м.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Еровиченков А.А. д.м.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. –Вирусология).

Председатель (заместитель председателя)
диссертационного совета 24.1.255.01
профессор, доктор медицинских наук

Е.А. Ткаченко

Ученый секретарь
диссертационного совета 24.1.255.01
кандидат биологических наук

А.В. Белякова

«15» декабря 2023 г.



ПРОТОКОЛ № 20

заседания совета по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, соискание ученой степени кандидата наук
24.1.255.01 на базе ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)

от 15 декабря 2023 года
14:00 час. МСК.

По списку членов диссертационного совета – 21 чел.
Присутствовало на заседании – 15 чел.

Председатель (заместитель председателя) диссертационного совета	– профессор, д.м.н. Ткаченко Е.А.
Заместитель председателя	– профессор, д.м.н. Еровиченков
Ученый секретарь диссертационного совета	– к.б.н. Белякова А.В.

Присутствовали члены диссертационного совета:

Ишмухаметов А.А. д.м.н., профессор, академик РАН (1.5.10. –Вирусология), Егоров А.М. д.б.н., профессор, академик РАН (1.5.10. –Вирусология), Костинов М.П. д.м.н., профессор, член-корр. РАН (1.5.10. –Вирусология), Дзагурова Т.К. д.м.н. (1.5.10. – Вирусология), Иванов А.П. д.м.н. (1.5.10. –Вирусология), Васин А.В. д.б.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Никитин Н.А. д.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Карганова Г.Г. д.б.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Борисевич И.В. д.м.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Гамбарян А.С. д.б.н. (1.5.10. –Вирусология), Калинина Н.О. д.б.н., профессор (1.5.10. –Вирусология), Иванова О.Е. д.м.н. (1.5.10. –Вирусология).

ПОВЕСТКА ЗАСЕДАНИЯ:

1. Защита диссертации **Пиняевой Анастасии Николаевны** на тему: «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».

Научный руководитель: Ишмухаметов Айдар Айратович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, генеральный директор ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, Санкт-Петербург ул. Профессора Попова, 15/17).

Официальные оппоненты:

Юминова Надежда Васильевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний, отдела вирусологии им. О.Г. Анджaparидзе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Россия, Москва Малый Казенный переулок, д.5а).

Красильников Игорь Викторович – доктор биологических наук, профессор, генеральный директор Акционерного общества «Развитие Биотехнологий» (Россия, Москва, пр-кт. Вернадского, д. 96).

СЛУШАЛИ: доклад по диссертации **Пиняевой Анастасии Николаевны** на тему: «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

Благодаря массовой вакцинации полиомиелит ликвидирован почти во всех странах мира. Применяются два типа вакцин: 1) пероральная (живая) полиомиелитная вакцина (ППВ), приготовленная из аттенуированных штаммов Сэбина (штамм Сэбина типа 1 LSc 2ab, штамм Сэбина типа 2 P712 Ch 2ab, штамм Сэбина типа 3 Leon 12a₁b) и 2) инактивированная вакцина (ИПВ), приготовленная из диких штаммов (тип 1 — Mahoney, тип 2 — MEF-1, тип 3 — Saukett).

В 2008 году в Национальном календаре профилактических прививок России была изменена схема иммунизации против полиомиелита:

1-ая и 2-ая аппликации - в возрасте 3 и 4,5 месяцев – с помощью инактивированной вакцины;
3-я – 6 –ая – в возрасте 6, 18, 20 месяцев и 14 лет - с помощью пероральной вакцины.

В 2022 году в Национальный календарь профилактических прививок России вновь были внесены изменения: сроки проведения первых 4 аппликаций остаются без изменений и проводятся инактивированной вакциной, а 5-ая и 6-ая ревакцинации – пероральной вакциной, причем срок проведения 6-ой ревакцинации смещен с 14 лет на 6 лет. Таким образом, потребности страны в ИПВ возросли вдвое. В настоящее время в качестве важных потенциальных источников распространения диких штаммов полиовирусов в регионах, свободных от их циркуляции, выступают производства ИПВ. Использование альтернативных штаммов в производстве ИПВ, например, вакцинных штаммов Сэбина, позволит снизить такую опасность в эпоху ликвидации полиомиелита. Глобальная инициатива по ликвидации полиомиелита (ГИЛП) также поощряет разработку и производство инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина (сИПВ).

Разработка технологии производства сИПВ велась независимо несколькими группами с 1980-х г. в США, Европе, Китае и Японии. Первые клинические исследования, целью которых являлось определение иммуногенности и безопасности сИПВ, начались в 1985 году. Однако промышленное производство сИПВ налажено только в Японии и Китае. В Японии с ноября 2012 года в программу рутинной иммунизации включена первая в мире лицензированная сИПВ. сИПВ успешно применяется на протяжении уже 10 лет в Японии и с 2018 года в Китае. Таким образом, для эпидемиологического благополучия населения РФ необходима разработка технологии производства отечественной сИПВ.

Степень разработанности темы

За прошедшие десятилетия исследователями из Института трансляционной вакцинологии Intravacc (Нидерланды), Национального института инфекционных болезней Японии, Института медицинской биологии Китайской академии медицинских наук IMBCAMS и др. проводились работы по разработке технологии производства сИПВ. Несмотря на это, мало проработанными

остаются процессы очистки полуфабрикатов сИПВ. Нет доступных данных об условиях проведения хроматографических очисток: скорость элюирования, объем загрузки (нагрузка на сорбент), применяемые хроматографические колонны, а также не приводятся такие данные как степень извлечения целевого антигена и степень очистки от примесей. Разработка высокоэффективных технологичных процессов очистки полуфабрикатов сИПВ по-прежнему актуальная тема исследований.

Цель исследований: разработка высокоэффективных технологичных процессов очистки полуфабрикатов инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина и получение доказательств безопасности и иммуногенности препарата, производимого по новой технологии.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить 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 промышленном производстве вакцины.

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.

7. Изучить переносимость, безопасность и иммуногенность вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина в сравнении с коммерческой вакциной Имовакс Полио по результатам второй фазы клинических исследований.

Научная новизна

В результате экспериментальных исследований разработаны научно обоснованные биотехнологические приемы очистки концентратов полиовирусов штаммов Сэбина трех типов, которые стали применяться в технологии производства 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

1. Разработана технология получения высокоочищенных концентратов полиовируса для производства инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина с применением биореакторной технологии. Производство полного цикла данной вакцины позволит обеспечить страну отечественным препаратом, что положительно скажется на эпидемиологическом благополучии населения РФ.

2. Определены контролируемые показатели на стадиях хроматографических очисток вирусных концентратов при промышленном производстве вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина, включающие контроль на бактериальные эндотоксины, остаточную клеточную ДНК, бычий сывороточный альбумин, общий белок и содержание D-антигена.

3. Использованные биотехнологические приемы, такие как снятие профиля элюции на сорбентах с разной матрицей и с разным диапазоном фракционирования для эксклюзионной хроматографии и проведение ионообменной хроматографии в градиентном режиме для определения оптимальных режимов хроматографической очистки, могут применяться при изучении процессов очисток различных вирусных суспензий, а разработанные критерии оценки эффективности проведения хроматографических очисток вирусных концентратов позволят проанализировать полученные результаты.

4. Результаты клинических исследований с участием добровольцев в возрасте 18-60 лет подтверждают хорошую переносимость, высокий профиль безопасности и выраженные иммуногенные свойства вакцины ПолиовакСин в сравнении с Имовак Полио. Полученные данные позволили продолжить регистрационные мероприятия, направленные на внедрение в клиническую практику отечественной вакцины и дальнейшее ее использование в рамках Национального календаря профилактических прививок.

Методология и методы исследования

В исследованиях, проведенных в рамках настоящей диссертационной работы, применяли комплекс современных лабораторных методов (включая вирусологические, иммунологические и молекулярно-генетические). Клинические исследования проводили в соответствии с нормативно-регламентирующими документами.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработаны подходы для подбора условий проведения гель-фильтрации и ионообменной хроматографии вирусных суспензий, а также определены критерии оценки эффективности проводимых процессов.

2. Показано влияние изоэлектрической точки вакцинных штаммов полиовируса и pH элюирующего буферного раствора на степень извлечения целевого антигена при проведении ионообменной хроматографии. Установлено, что степень извлечения целевого антигена выше при pH элюирующего буферного раствора близком к изоэлектрической точке штамма полиовируса.

3. Доказано, что разработанная технология позволяет получать серии инактивированной вакцины против полиомиелита ПолиовакСин, полностью соответствующие требованиям, предъявляемым к медицинским иммунобиологическим препаратам.

4. Введение вакцины ПолиовакСин добровольцам I и II фаз клинических исследований показало ее хорошую переносимость, низкую реактогенность и высокий профиль безопасности. Аллергизирующие свойства у вакцины ПолиовакСин не были выявлены.

5. Установлено, что антитела, индуцируемые вакциной ПолиовакСин, могут нейтрализовать не только вакцинные штаммы полиовируса типа 1 (штамм Сэбина LSc 2ab), типа 2 (штамм Сэбина P712 Ch 2ab) и типа 3 (штамм Сэбина Leon 12a1b), но и дикие штаммы полиовируса тип 1 (штамм Mahoney), тип 2 (штамм MEF-1) и тип 3 (штамм Saukett).

6. Показана хорошая переносимость, высокий профиль безопасности и выраженные иммуногенные свойства вакцины ПолиовакСин в сравнении с Имовакс Полио в клиническом исследовании с участием добровольцев в возрасте 18-60 лет.

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

Научные положения диссертации соответствуют пунктам 2, 7, 10, 11 паспорта специальности 1.5.10. - «Вирусология».

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных в ходе работы данных основана на их воспроизводимости при многократном повторении экспериментов, длительном сроке наблюдений, комплексном подходе к проведению исследований, выполненных с использованием современных методов, и статистической обработкой полученных результатов. Все выводы и практические рекомендации диссертации логично вытекают из полученных результатов и соответствуют цели и задачам работы. Материалы диссертации были представлены и обсуждены на научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики инфекционных и онкологических заболеваний» (Москва, 2018 г.), Европейской встрече пользователей XFEL (Европейский рентгеновский лазер на свободных электронах) (Германия, Гамбург, 2019), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы эпидемиологии инфекционных и неинфекционных болезней» (Россия, 2019 г.), международной конференции Вирусология Африка (ЮАР, Кейптаун, 2019), на IV международной конференции, посвященной вакцинам, вакцинации и иммунотерапии «Перспективные технологии вакцинации и иммунотерапии» (онлайн, 2020), на всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (Россия, 2021 год).

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Россия, Санкт-Петербург ул. Профессора Попова, 15/17) - *дала положительный отзыв на диссертацию.*

Официальные оппоненты - Юминова Н.В. д.б.н., Красильников И.В. д.б.н., профессор – *дали положительные отзывы на диссертацию.*

Счетная комиссия избрана в составе: председатель – д.б.н. Никитин Н.А., члены комиссии – д.м.н. Иванов А.П., д.м.н. Дзагурова Т.К.

Результаты голосования: диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности 1.5.10 – «Вирусология», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали: за – 15, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Протокол тайного голосования утвержден открытым голосованием.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное научное учреждение

"Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических

препаратов им. М.П. Чумакова РАН" (Институт полиомиелита)

ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

(наименование организации)

Форма по ОКУД

по ОКПО

Код
0301005
01895045

ВЫПИСКА ИЗ ПРИКАЗА

Номер документа	Дата составления
249-к	01.12.2023

«О возложении полномочий
председателя диссертационного совета 24.1.255.01»

В связи с тем, что являюсь научным руководителем Пиняевой А.Н. по диссертации на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. – «Вирусология» и в соответствии с п.23 Приказа Минобрнауки №1093 от 10.11.2017 г. (внесение изм. Приказа Минобрнауки № 458 от 07.06.2021 г. п. 10 п.п. 22(1)).

ПРИКАЗЫВАЮ:

Исполнение обязанностей председателя диссертационного совета 15 декабря 2023 г. возложить на заместителя председателя диссертационного совета 24.1.255.01 д.м.н., проф. Ткаченко Е.А.

Руководитель организации генеральный директор подпись А.А. Ишмухаметов
(должность) (личная подпись) (расшифровка подписи)

Приказ завизирован:

Руководитель финансово-экономического направления	<u>подпись</u> (личная подпись)	Н.В. Белецкая
Главный бухгалтер	<u>подпись</u> (личная подпись)	О.Е. Голетиани
Руководитель научного направления учреждения	<u>подпись</u> (личная подпись)	Е.А. Ткаченко
Ведущий юрисконсульт	<u>подпись</u> (личная подпись)	П.А. Щепетнев
Начальник отдела кадров	<u>подпись</u> (личная подпись)	А.И. Симакова



Специалист по персоналу 2 категории

Е.Н. Бодрина