

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального  
государственного бюджетного научного  
учреждения «Научно-исследовательский  
институт вакцин и сывороток  
им. И.И. Мечникова»

член-корреспондент РАН, профессор,  
доктор медицинских наук

 О.А. Свитич

«04» сентября 2024 г.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»  
(ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова)

Диссертация Файзулова Евгения Бахтиеровича на тему: «Биологическое разнообразие и факторы вирулентности вирусов - возбудителей вакциноуправляемых инфекций», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология, выполнена в лаборатории прикладной вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова).

В период подготовки диссертации соискатель Файзулов Евгений Бахтиерович с 2009 года работал в ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова заведующим лабораторией молекулярной вирусологии, а с 2022 года по настоящее время заведующим лабораторией прикладной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова.

В 1999 году Файзулов Е.Б. окончил Государственное образовательное учреждение «Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева», присуждена квалификация зооинженера по специальности «Зоотехния».

В 2002 году Файзулов Е.Б. окончил очную академическую аспирантуру Государственного учреждения «Научно-исследовательский институт вирусных препаратов им. О.Г. Анджaparидзе РАМН».

В 2002 году успешно защитил диссертацию на тему: «Изучение противовирусной активности антисмысловых РНК и рибозимов в отношении

инфекции, вызываемой вирусом алеутской болезни норок» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.00.06. Вирусология и 03.00.03. Молекулярная биология в диссертационном совете Д 001.026.01, созданном на базе ФГБНУ «Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН».

Научный консультант – Зверев Виталий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН, научный руководитель Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

#### **Оценка выполненной соискателем работы:**

Диссертация Файзуловой Е.Б. является завершённым научным исследованием, выполненном на высоком современном научном уровне. В диссертации содержится решение ряда научных задач, общей целью которых является повышение эффективности вакцин для профилактики приоритетных управляемых вирусных инфекций. В диссертации исследована распространённость генотипов ротавирусов и папилломавирусов и видов коронавирусов на территории московского региона и Российской Федерации. Определены маркеры и факторы снижения вирулентности вирусов краснухи и SARS-CoV-2 и разработаны принципы аттенуации вируса для разработки живой аттенуированной вакцины против COVID-19. Автор владеет проблематикой, языком, методологией и терминологией. Диссертация раскрывает вопросы поставленных задач и соответствует требованию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследований и взаимосвязи результатов и выводов.

#### **Актуальность работы**

Вакцинопрофилактика является наиболее эффективной мерой снижения заболеваемости и смертности от вирусных инфекций. В то же время, опыт массового применения вакцин против ротавирусного энтерита, папилломавирусной инфекции и COVID-19 показал, что вакцинация защищает человека от тяжелых форм этих заболеваний, но не всегда предохраняет от заражения и не предотвращает распространения вируса. Возбудителей перечисленных вирусных инфекций характеризует широкое генетическое разнообразие, тенденция к появлению новых антигенных вариантов и дивергенция в процессе эволюции под влиянием различных селективных факторов. Способность к периодическому появлению новых эпидемически значимых геновариантов вирусов определяется высокой

изменчивостью вирусного генома, наличием природных резервуаров инфекции, возможностью межвидовой трансмиссии, а для ротавирусов группы А еще и сегментированным характером вирусного генома. Таким образом, элиминация ротавирусной, папилломавирусной и коронавирусной инфекции в ближайшее время не представляется возможной, что делает неспецифическую и специфическую профилактику, эпидемиологический мониторинг и совершенствование вакцин в отношении упомянутых заболеваний актуальными задачами в долгосрочной перспективе.

Возможность появления новых патогенных вирусов, в том числе обладающих пандемическим потенциалом, требует от служб эпидемиологического надзора и медицинской науки быть в состоянии постоянной готовности к быстрой разработке диагностических тест-систем, средств лечения и профилактики новых инфекций. В связи с этим необходим постоянный мониторинг генетического и антигенного разнообразия возбудителей вакциноуправляемых вирусных инфекций. Актуальность диссертации определяется высокой клинической значимостью и ubicвитарностью коронавирусов, папилломавирусов и ротавирусов группы А, отсутствием соответствующих вакцин в российском национальном календаре иммунизации (НКИ). Важно отметить, что в соответствии с рекомендациями ВОЗ, ротавирусная и папилломавирусная инфекция относятся к приоритетным вакциноуправляемым инфекциям, при этом соответствующие отечественные профилактические вакцины не разработаны, либо находятся на стадии клинических исследований.

Не менее актуальной проблемой фундаментальной и медицинской вирусологии является установление факторов и детерминант вирулентности вирусов и механизмов ее модуляции. Эти знания имеют большое научно-практическое значение для создания живых аттенуированных вакцин, способных активировать не только системный гуморальный и клеточный иммунитет, но также и местный мукозальный иммунитет, обеспечивая стойкий иммунный ответ и перекрестную защиту от разных антигенных вариантов вирусов. Актуальными проблемами российского здравоохранения остается создание отечественных живых аттенуированных вакцин против таких управляемых инфекций как краснуха и COVID-19. Важно отметить, что вакцина против краснухи, используемая в рамках НКИ, основана на зарубежном вакцинном штамме RA27/3. Несмотря на то, что в мире проводятся соответствующие научные исследования, спустя четыре года с начала пандемии потенциал живых аттенуированных вакцин в профилактике COVID-19 остается нереализованным.

Несмотря на достигнутый прогресс в «управлении» вирулентностью вирусов, в процессе разработки живых вирусных вакцин сохраняются проблемы. Получение вакцинного штамма требует не только глубоких знаний биологии возбудителя, его антигенного разнообразия и взаимоотношений с хозяином на уровнях *in vitro* и *in vivo*, но и тщательных эмпирических доказательств его безопасности, высокой иммуногенности и протективной активности. В связи с этим, в задачи диссертации входила разработка научных основ создания живых аттенуированных вакцин против краснухи и COVID-19, включая получение аттенуированных мутантов вируса, выявление вероятных маркеров и детерминант их аттенуации, оценку иммуногенности и протективной активности на животных моделях.

### **Научная новизна**

1. Разработана не имеющая аналогов методика специфической ПЦР-амплификации сегментированного ротавирусного РНК-генома для последующей полногеномной характеристики ротавирусов человека методом нанопорового секвенирования.

2. Установлена ключевая роль ротавирусов группы А в госпитализации с острым гастроэнтеритом и внутрибольничного заражения в довакцинальном периоде детей в возрасте до 5 лет в условиях стационаров г. Москвы. Определена динамическая структура G/P-генотипов ротавирусов группы А человека, циркулировавших в московском регионе в период с 2009 по 2020 гг.

3. Получены приоритетные данные о циркуляции на территории РФ всех известных сезонных коронавирусов человека HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HCoV-NKU1.

4. В геноме аттенуированного мутанта штамма С-77 вируса краснухи выявлены мутации, определяющие его температурочувствительный и аттенуационный фенотип.

5. Путем холодовой адаптации в культуре клеток обезьяны получены не имеющие отечественных аналогов аттенуированные мутанты Ухань-подобного штамма SARS-CoV-2. На животной модели коронавирусной пневмонии установлена высокая иммуногенность и протективная активность холодаадаптированных мутантов SARS-CoV-2.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Дано экспериментальное обоснование высокой диагностической эффективности применения метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ для дифференциального выявления широкого спектра возбудителей острых вирусных инфекций. На основе метода мультиплексной ОТ-ПЦР-РВ

разработаны лабораторные тест-системы для дифференциальной диагностики острых респираторных и кишечных вирусных инфекций и генотипирования ротавирусов группы А.

Разработанные методические подходы к генетической характеристике ротавирусов представляют собой эффективные инструменты эпидемиологического мониторинга ротавирусной инфекции, а также могут стать основой методов контроля подлинности и специфической активности при производстве ротавирусной вакцины.

Понимание распространенности папилломавирусов и ротавирусов человека на территории РФ важно для прогнозирования эффективности специфической профилактики соответствующих заболеваний вакцинами разного состава. В России вакцинопрофилактика ВПЧ-инфекции и ротавирусного энтерита производится зарубежными вакцинными препаратами. В связи с этим полученные результаты представляют интерес для разработчиков отечественных вакцин, поскольку позволяют определять их состав с учетом региональных особенностей распространенности различных типов ВПЧ.

В исследовании видовой разнообразия коронавирусов человека, циркулирующих в московском регионе, подтвержден тезис об убикивитарности коронавирусов человека HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HCoV-NKU1. Установлена этиологическая роль коронавирусов HCoV-OC43 и HCoV-NL63 в возникновении у детей тяжелых респираторных заболеваний, требующих госпитализации.

На различных этапах пандемии из клинических образцов от пациентов с COVID-19 в культуре клеток были изолированы штаммы SARS-CoV-2 и установлена их субвидовая таксономическая принадлежность к разным эпидемически значимым вариантам вируса, включая Ухань-подобный, Delta и Omicron. Охарактеризованные культуральные изоляты SARS-CoV-2 представляют собой ценность при проведении вирусологических исследований, а также при разработке средств диагностики, специфической профилактики и лечения COVID-19.

Определены маркеры и факторы снижения вирулентности вирусов краснухи и SARS-CoV-2. В частности, установлено, что адаптация этих вирусов к выращиванию в культуре клеток Vero при пониженной температуре приводит к аттенуации вируса для чувствительных лабораторных животных. Показано, что наличие *ts* фенотипа не является единственным условием для аттенуации SARS-CoV-2, поскольку в снижении вирулентности вируса важную роль играет также смена хозяина, что сопровождается утратой мутантным вирусом способности заражать клетки

легких человека *in vitro*. Полученные результаты демонстрируют, что холодовая адаптация вирусов краснухи и SARS-CoV-2, проводимая в клетках почки обезьяны Vero, является эффективной стратегией для получения кандидатных вакцинных штаммов. Таким образом, разработаны принципы получения аттенуированных штаммов вирусов краснухи и SARS-CoV-2, которые по своим биологическим свойствам могут рассматриваться в качестве кандидатов для разработки на их основе живой аттенуированной вакцины.

### **Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации**

Личный вклад автора заключался в анализе научной литературы, разработке методологии, планировании, организации и проведении экспериментальных исследований, систематизации и анализе полученных результатов, оформлении результатов в виде публикаций и научных докладов. Основная часть экспериментальных работ была выполнена в лаборатории прикладной вирусологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова лично или под научным руководством Файзулова Е.Б. Вклад автора заключается в непосредственной разработке тест-систем для выявления и генетической характеристики вирусов, исследовании распространенности генотипов ротавирусов и папилломавирусов человека на территории Российской Федерации, получении и биологической характеристики аттенуированных штаммов коронавируса SARS-CoV-2, выявлении факторов и маркеров аттенуации вирусов краснухи и SARS-CoV-2, интерпретации получаемых результатов и написании ключевых публикаций.

### **Научная специальность, которой соответствует диссертация**

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям диссертация соответствует паспорту научной специальности 1.5.10. Вирусология. Результаты проведенного исследования соответствуют пунктам 6: Проблемы патогенности вирусов, цитопатологии инфицированных вирусом клеток и тканей, изучение патогенеза вирусных инфекций, путей проникновения вируса в организм и распространения вирусов в организме; 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 и 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 – паспорта специальности.

### **Внедрение полученных результатов исследования в практику**

Способы дифференциальной диагностики острых респираторных и кишечных вирусных инфекций, нуклеотидные последовательности вирусоспецифичных праймеров и зондов защищены патентами РФ RU2460803C2 и RU2506317C2. Набор реагентов «ОРВИ-Монитор» приказом Росздравнадзора разрешен к производству, продаже и применению на территории РФ (регистрационное удостоверение № ФСР 2012/13218).

Последовательности геномов штаммов ротавирусов и SARS-CoV-2, полученные в ходе работы, были депонированы в базе данных GenBank.

Апробированные при проведении исследований методические подходы внедрены в научную и педагогическую работу кафедры вирусологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО) и в аспирантуре по специальности 1.5.10. Вирусология в ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова.

### **Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.**

Научная деятельность Файзулова Е.Б. отражена в 80 научных публикациях и 4 патентах на изобретение РФ. По теме диссертационного исследования опубликовано 35 научных работ, из них статей, опубликованных в Перечне рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (Перечень ВАК), а также индексируемых в международных базах Scopus, Springer, RSCI - 33. Получено патентов на изобретение РФ – 2.

Основные научные результаты диссертации достаточно полно отражены в следующих опубликованных статьях:

1. Дмитриев Г.В. Изучение молекулярных механизмов аттенуации вируса краснухи на примере отечественного штамма С-77 / Г.В. Дмитриев, Т.К. Борисова, **Е.Б. Файзулов** [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2012. – № 3. – С. 28-34. (RSCI, Springer, PubMed, ВАК, K1)

2. **Faizuloev E.** Cold-adapted SARS-CoV-2 variants with different temperature sensitivity exhibit an attenuated phenotype and confer protective

immunity / E. Faizuloev, A. Gracheva, E. Korchevaya [et al.] // *Vaccine*. – 2023. – Vol. 41. – N. 4. – P. 892-902. DOI: 10.1016/j.vaccine.2022.12.019. (Web of Science, Scopus, PubMed, Q1)

3. **Faizuloev E.** New approach of genetic characterization of group A rotaviruses by the nanopore sequencing method / E. Faizuloev, R. Mintaev, O. Petrusha [et al.] // *Journal of Virological Methods*. – 2021. – Vol. 292. – P. 114114. DOI: 10.1016/j.jviromet.2021.114114. (Scopus, PubMed, Q3)

4. **Файзулов Е.Б.** Биологическая характеристика холодоадаптированных вариантов коронавируса SARS-CoV-2 / Е.Б. Файзулов, Е.Р. Корчевая, А.В. Грачева [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2022. – Т. 99. – № 4. – С. 397-409. DOI: 10.36233/0372-9311-280. (RSCI, Scopus, ВАК, K1)

5. **Файзулов Е.Б.** Однократная интраназальная иммунизация аттенуированным Ухань-подобным SARS-CoV-2 обеспечивает высокоэффективную перекрёстную защиту от заражения вариантами Delta и Omicron / Е.Б. Файзулов, А.В. Грачева, Е.Р. Корчевая [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2024. – Т. 101. – № 1. – С. 36-51. DOI: 10.36233/0372-9311-496. (RSCI, Scopus, ВАК, K1)

6. **Файзулов Е.Б.** Распространенность папилломавирусов человека высокого и низкого онкогенного риска на территории Российской Федерации / Е.Б. Файзулов, А.Н. Каира, Т.Р. Узбеков [и др.] // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. – 2021. – Т. 39. – № 4. – P. 39-47. DOI: 10.17116/molgen20213904139. (RSCI, Springer, PubMed, ВАК, K1)

7. Kiseleva V. Molecular-Genetic Characterization of Human Rotavirus A Strains Circulating in Moscow, Russia (2009–2014) / V. Kiseleva, **E. Faizuloev**, E. Meskina [et al.] // *Virologica Sinica*. – 2018. – Vol. 33. – N. 4. – P. 304-313. DOI: 10.1007/s12250-018-0043-0. (Scopus, Q3).

8. Грачева А.В. Вирулентность и тканевая специфичность разных эпидемически значимых вариантов SARS-CoV-2 для золотистых сирийских хомячков / А.В. Грачева, А.О. Дроков, Д.И. Смирнова, **Файзулов Е.Б.** [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2024. – Т. 101. – № 4. – С. 470-482. DOI: 10.36233/0372-9311-528. (RSCI, Scopus, ВАК, K1)

9. Gracheva A.V. Immunogenic properties of SARS-CoV-2 inactivated by ultraviolet light / A.V. Gracheva, E.R. Korchevaya, Y.I. Ammour, **E. Faizuloev** [et al.] // *Archives of Virology*. – 2022. – Vol. 167. – N. 11. – P. 2181-2191. DOI: 10.1007/s00705-022-05530-7. (Scopus, Springer, PubMed, Q3)

10. Петруша О.А. Молекулярно-генетические особенности ротавирусов группы А, выявленных в Москве в 2015–2020 гг. / О.А. Петруша, Е.Р.



Корчевая, Р.Р. Минтаев, **Е.Б. Файзулов** [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2022. – Т. 99. – № 1. – С. 7-19. DOI: 10.36233/0372-9311-208. (RSCI, Scopus, ВАК, K1)

11. Никонова А.А. Генетическое разнообразие и эволюция биологических свойств коронавируса SARS-CoV-2 в условиях глобального распространения / А.А. Никонова, **Е.Б. Файзулов**, А.В. Грачева [и др.] // Acta Naturae. – 2021. – Т. 13. – № 3. – Р. 77-89. DOI: 10.32607/actanaturae.11337. (RSCI, PubMed, Q4)

12. Лободанов С.А. Исследование видовой структуры риновирусов и коронавирусов, циркулировавших в Московском регионе в период с 2007 по 2012 г. / С.А. Лободанов, И.С. Киселев, Ю.И. Аммур, **Файзулов Е.Б.** [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2015. – Т. 60. – № 3. – С. 31-36. (RSCI, Scopus, PubMed, K1)

13. Ammour, Y. Quantification of measles, mumps and rubella viruses using real-time quantitative TaqMan-based RT-PCR assay / Y. Ammour, **Е. Faizuloev**, T. Borisova [et al.] // Journal of Virological Methods. – 2013. – Vol. 187. – N. 1. – P. 57-64. DOI: 10.1016/j.jviromet.2012.09.011 (Scopus, Q2).

Диссертация проверена в системе «Антиплагиат.Эксперт». Доля уникального авторского текста диссертационной работы составляет 94%. Автором рукописи диссертации правомерно использованы ранее опубликованные тексты с указанием необходимых ссылок на источники информации и соблюдением авторских прав правообладателей.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследований**

Достоверность экспериментальных данных обеспечена использованием обширного комплекса современных методов исследования и статистического анализа, корректных положительных и отрицательных контролей, проверкой воспроизводимости результата в независимых экспериментах, критической оценкой полученных результатов при сравнении с данными современной научной литературы.

Результаты работы были представлены к обсуждению научным сообществом на российских и международных конференциях и симпозиумах: II Российский конгресс по медицинской микробиологии и инфектологии (29 февраля - 1 марта 2024 г., Москва); IV Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы» (12–13 октября 2023 г., Москва), XII Съезд Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (26–28 октября 2022 г., Москва); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Современная иммунопрофилактика: вызовы,

возможности, перспективы» (7 - 8 октября 2021 г., Москва); X Юбилейная международная научно-практическая конференция «Молекулярная диагностика 2021» (09-11 ноября 2021 г., Москва) и другие.

### **Общее заключение**

Диссертация Файзулова Евгения Бахтиеровича на тему: «Биологическое разнообразие и факторы вирулентности вирусов - возбудителей вакциноуправляемых инфекций» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой выполнены исследования видового и субвидового разнообразия возбудителей приоритетных вакциноуправляемых инфекций и разработаны научные основы аттенуации вирусов краснухи и SARS-CoV-2. Основные научные положения, выводы и практические рекомендации полностью отражают объем выполненного исследования. В диссертации изложены новые научно обоснованные решения, внедрение которых в практику здравоохранения позволит в значительной степени уменьшить тяжесть социально-экономических последствий, связанных с заболеваемостью вирусными инфекциями, сопровождающимися нередко летальным исходом.

Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, выдвигаемые для публичной защиты, и свидетельствует о личном вкладе автора диссертации в науку, а в частности вирусологию (биологические науки).

Диссертация Файзулова Евгения Бахтиеровича на тему: «Биологическое разнообразие и факторы вирулентности вирусов - возбудителей вакциноуправляемых инфекций» соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в ред. Постановлений Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г.; №650 от 29.05.2017 г.; №1024 от 28.08.2017 г.; №1168 от 01.01.2018 г.; № 426 от 20.03.2021 г.; №101 от 26.01.2023 г.; в действующей ред. №62 от 25.01.2024 г. с изменениями от 01.01.2025 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, ученой степени кандидата наук и рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.10. Вирусология.

Заключение принято и утверждено на заседании Ученого совета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Присутствовало на заседании 32 члена Ученого совета. В голосовании участвовал 31 человек (член Ученого совета Файзулов Е.Б., как соискатель, не участвовал в голосовании).

Результаты голосования: «за» – 31 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет; (Протокол заседания №3 от 10 июля 2024 г).

Зам.председателя Ученого Совета  
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова,  
доктор медицинских наук, профессор  
член-корреспондент РАН

 Оксана Анатольевна Свитич


Секретарь Ученого совета

 Анна Викторовна Васильева

Подписи д.м.н., профессора, члена-корреспондента РАН О.А. Свитич и секретаря Ученого совета А.В. Васильевой удостоверяю.

Начальник отдела кадров ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова



 Е.В. Лукачева

«04» сентября 2024 г.