

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ФГАНУ
«Федеральный научный центр
исследований и разработки
иммунобиологических препаратов им.
М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита)
академик РАН, профессор, д.м.н.



А.А. Ишмухаметов

«28» апреля 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного научного учреждения
«Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических
препаратов им. М.П. Чумакова РАН»
(Институт полиомиелита).

Диссертация Пиняевой Анастасии Николаевны на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10. - «Вирусология», выполнена в лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

В период подготовки диссертации соискатель Пиняева А.Н. с 2015 года работала в ФГУП «Предприятие по производству бактерийных и вирусных препаратов Института полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН» в должности микробиолога отделения полиомиелитной вакцины, с 2017 года в должности ведущего технолога отдела производственных технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

С 2020 г. по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории биохимии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Пиняева А.Н. в 2009 году окончила Московский государственный университет прикладной биотехнологии (технологический факультет, инженер-технолог, специалист). В 2011 году окончила магистратуру Московского государственного университета прикладной биотехнологии (технологический факультет, магистр техники и технологии).

За период с 2017 г. по 2020 г. прошла обучение в очной академической аспирантуре ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) по специальности 03.02.02 - «Вирусология» (справка о сдаче кандидатских экзаменов № 27 от 25.02.2021 г., справка об окончании очной аспирантуры № 26 от 25.02.2021 г. выдана ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

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).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность работы.

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.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

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. Лично или с участием автора подготовлены основные публикации по материалам исследования. В целом, личный вклад в выполнение творческой части исследования – в пределах 90%.

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» (Москва, 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» (Москва, 2021 год).

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.

Практическая значимость.

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.

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.

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.

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

Имовакс 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.

Научная специальность, которой соответствует диссертация.

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.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Научная деятельность Пиняевой А.Н. отражена в 12 научных работах, в том числе по теме диссертации опубликованы 4 работы (2 рецензируемые работы согласно Перечню ВАК), 1 работа в научных изданиях, индексируемых базами Web of Science, Scopus, PubMed и 1 глава в книге.

Диссертация проверена в системе «Антиплагиат.Эксперт». В диссертации соблюдены ссылки на авторов и источники заимствования материала. Доля личного участия в получении, обобщении, анализе и интерпретации вирусологических экспериментальных данных – в пределах 90%.

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

1. Immunogenicity and Safety of Inactivated Sabin-Strain Polio Vaccine “PoliovacSin”: Clinical trials phase I and II / A. Piniyeva, G. Ignatyev, L. Kozlovskaya, Y. Ivin, A. Kovpak, A. Ivanov, A. Shishova, L. Antonova, Y. Khapchaev, I. Feldblum, O. Ivanova, A.

- Siniugina, A. Ishmukhametov // Vaccines. – 2021. – Т. 9. – № 6. – С. 1-11. DOI: 10.3390/vaccines9060565.
2. Подбор сорбента для очистки концентрата вакцинного штамма полиовируса методом гель-фильтрации / **А.Н. Пиняева**, А.А. Ковпак, Ю.Ю. Ивин, А.А. Шишова, А.А. Сорокин, М.А. Простова, А.В. Белякова, А.А. Синюгина, А.А. Ишмухаметов, Ю.Х. Хапчаев, А.П. Гмыль // Биотехнология. – 2021. – Т. 37. – № 6. – С. 84-94. DOI: 10.21519/0234-2758-2021-37-6-84-94.
 3. Применение ионообменной хроматографии при разработке технологии получения инактивированной вакцины против полиомиелита / **А.Н. Пиняева**, А.А. Ковпак, Ю.Ю. Ивин, С.Х. Санджиева, А.А. Шишова, И.О. Целых, В.Е. Василенко, К.В. Каа, Ж.Х. Мажед, Ю.Х. Хапчаев, А.А. Синюгина, А.А. Ишмухаметов // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. – 2022. – Т. 21. – № 5. – С. 107-119. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-5-107-119.
 4. Биофармацевтическое производство. Разработка, проектирование и внедрение производственных процессов. Г. Ягшис, Е. Линдског, К. Лаки, П. Галлихер // Пер. с англ. под ред. А. А. Ишмухаметова, Н. В. Пятигорской. Глава 44-1: Процесс производства и масштабирование основных этапов получения полиомиелитных вакцин. А.А. Ишмухаметов, А.А. Синюгина, **А.Н. Пиняева**, Ю.Ю. Ивин, А.А. Ковпак – СПб.: Издательство Профессия, 2020. – Том 2. – С.352-364.

Общее заключение.

Диссертационное исследование Пиняевой Анастасии Николаевны на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» является законченной научно-квалификационной работой, в которой научно обоснованы приемы очистки концентратов полиовирусов штаммов Сэбина трех типов, которые могут применяться в производстве отечественной инактивированной вакцины для профилактики полиомиелита. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения.

Диссертация 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», соответствует требованиям, установленным в пп. 9-14, Положения «О порядке присуждения 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.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, кандидата наук и может быть рекомендована к защите.

Заключение организации, где выполнялось диссертация Пиняевой Анастасии Николаевны на тему: «Разработка процессов очистки инактивированной вакцины против полиомиелита на основе штаммов Сэбина» принято на заседании научной экспертной комиссии ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Присутствовало на заседании 17 членов комиссии, (имеющих ученую степень доктора наук – 10 членов, кандидата наук – 7 членов) из 21 списочного состава научной экспертной комиссии.

Результаты голосования:

«За» – 17 членов комиссии;

«Против» – нет;

«Воздержалось» – нет;

Протокол заседания № 2 от 15 марта 2023 г.

Председатель научной экспертной комиссии,
руководитель научного направления учреждения,
доктор медицинских наук, профессор

Евгений Александрович Ткаченко

Секретарь научной экспертной комиссии,
ученый секретарь,
кандидат биологических наук

Алла Владимировна Белякова

Подписи проф., д.м.н. Ткаченко Е.А., к.б.н. Беляковой А.В. удостоверяю.

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

«28» марта 2023 г.



А.И. Симакова