



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ВАКЦИН И СЫВОРОТОК ИМ. И.И. МЕЧНИКОВА»**
(ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова)

Российская Федерация
105064, г. Москва
М. Казенный пер., 5А

Телефон/факс: (495) 917-49-00
Телефон/факс: (495) 917-54-60
E-mail: mech.inst@mail.ru

Исх № 67/1А
от 01.03.2023

УТВЕРЖДАЮ

Директор

ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова

Член-корр. РАН



О.А. Свитич О.А. Свитич

с.с.арт а 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» о научно-практической значимости диссертации Шамсутдиновой Ольги Анатольевны на тему «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ВЫПОЛНЕННОЙ РАБОТЫ

Разработка и внедрение новых медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП), в том числе живых противовирусных вакцин, на этапе

доклинических испытаний включает, в первую очередь, определение специфической безопасности вакцинных штаммов.

К вакцинным штаммам вируса краснухи должны предъявляться требования как отсутствия нейровирулентности вируса-кандидата, так и отсутствия тератогенного действия, в высокой степени свойственного «дикому» вирусу краснухи. Однако в настоящее время доклиническое изучение тератогенных свойств штаммов для живых противокраснушных вакцин в эксперименте представлено единичными работами, а единственным методом оценки специфической безопасности вакцинных штаммов в тесте интрацеребрального заражения обезьян является патоморфологическое исследование ЦНС инокулированных животных с визуальной оценкой степени поражений тканей. В то же время заключение о специфической безопасности – важнейший критерий возможности применения того или иного вакцинного препарата для введения его людям.

Кроме того, применение вакцинных препаратов для иммунизации населения в рамках календаря профилактических прививок (к которым относятся вакцины против краснухи), выдвигает задачу контроля генетической и фенотипической стабильности вакцинных вирусов в процессе их многолетнего производства.

Таким образом, весьма актуальной представляется разработка дополнительных объективных тестов, подтверждающих уровень аттенуации вакцинных штаммов и их стабильности, основанных на современных методах детекции вирусов и их компонентов.

НОВИЗНА ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДОВ

В результате проведенного диссертационного исследования автором разработана стратегия доклинической оценки специфической безопасности противовирусных вакцин с применением комплекса клинических,

иммунологических, патоморфологических, вирусологических и молекулярно-генетических методов.

О.А. Шамсутдиновой получены новые данные, обосновывающие пригодность высоко аттенуированного штамма вируса краснухи «Орлов-В», для создания на его основе живой краснушной вакцины. Впервые, в результате комплексного, клинико-лабораторного изучения тератогенных свойств данного вакцинного штамма, диссертантом установлено отсутствие маркеров врожденной краснушной инфекции у детенышей, родившихся от обезьян, привитых во время беременности, то есть, доказана утрата тератогенных свойств вакцинным вирусом, что является критерием безопасности применения штамма. В эксперименте на низших приматах установлен и низкий уровень остаточной нейровирулентности штамма «Орлов-В», что также свидетельствует о специфической безопасности вакцинного штамма вируса краснухи.

Отдельное внимание уделено изучению патогенеза краснушной инфекции. Установлено, что при низком уровне аттенуации штаммов вируса краснухи при интрацеребральном введении обезьянам, вирус может преодолевать гематоэнцефалический барьер, поражая периферические органы обезьян. Получены новые сведения о локализации и степени выраженности морфологических изменений в ЦНС обезьян, интрацеребрально инокулированных вакцинными и низкоаттенуированным штаммами вируса краснухи.

Помимо теоретической значимости и научной новизны, диссертационное исследование имеет несомненное практическое значение.

Полученные диссертантом доказательства отсутствия тератогенных свойств и остаточной нейровирулентности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В», свидетельствующие о специфической безопасности данного штамма, создают реальные предпосылки для проведения клинических испытаний.

Кроме того, полученные О.А. Шамсутдиновой патоморфологические данные могут служить морфометрическими параметрами, отражающими низкий или высокий уровень аттенуации штаммов вируса краснухи.

Выводы обоснованы, соответствуют поставленным задачам, вытекают непосредственно из экспериментальных данных, полученных диссертантом, и отражают результаты исследования.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ И ПУБЛИКАЦИИ

Результаты и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на 1 научно-практической конференции молодых учёных и на 8 всероссийских конференциях с международным участием, опубликованы в материалах этих конференций, 6 статей – в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных журналов, включённых в базу Scopus и Web of Science.

ОБОСНОВАННОСТЬ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ И ВЫВОДОВ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Основные положения диссертации, отражающие научную новизну и практическую значимость работы, хорошо аргументированы. Результаты исследований подтверждены статистическим анализом с применением адекватно подобранных критериев описательной статистики.

Результаты диссертационной работы внедрены в научно-практическую деятельность лаборатории доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий ФГБНУ «НИИ МП» при разработке и проведении доклинических исследований безопасности медицинских иммунобиологических препаратов.

СООТВЕТСТВИЕ СОДЕРЖАНИЯ ДИССЕРТАЦИИ АВТОРЕФЕРАТУ И УКАЗАННОЙ СПЕЦИАЛЬНОСТИ

Содержание диссертации Шамсутдиновой Ольги Анатольевны на тему «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи» соответствует специальности 1.5.10 – вирусология, поскольку посвящена исследованию критериев специфической безопасности штаммов для живой аттенуированной вакцины против краснухи. Диссертация имеет традиционное построение; изложена на 155 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, обширной главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка литературы, включающего 146 источников, в том числе 48 отечественных и 98 зарубежных, а также 6 приложений. Диссертация иллюстрирована 22 таблицами и 18 рисунками.

Первая глава посвящена обзору научных публикаций по основной теме работы за период 1966-2021 гг. и их анализу. Автором подробно описаны строение и жизненный цикл вируса краснухи, патогенез и клинические проявления постнатальной и врожденной краснушной инфекции, лабораторные методы идентификации вируса краснухи и обусловленной им инфекции. Отдельно описана роль вакцинопрофилактики краснухи как мощного инструмента контроля краснушной инфекции. Следует отметить, литературный обзор написан четко, логично, хорошим литературным языком, что является безусловным достоинством работы.

Во второй главе содержится информация об использованных в работе материалах и методах исследования. Из представленной информации видно, что в работе использован широкий спектр как классических, так и современных методов: культуральных, вирусологических, иммунологических, молекулярно-биологических, клинических, морфологических, гистологических. Так, культивирование штаммов вируса краснухи проводили на перевиваемой

культуре клеток Vero; определение инфекционного титра вируса осуществляли стандартным методом по цитопатическому действию в перевиваемой культуре клеток ВНК-21. Для выявления антител к вирусу краснухи в сыворотке крови обезьян использовали метод иммуноферментного анализа и реакцию торможения гемагглютинации. В работе использованы такие молекулярно-генетические методы как ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации и ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Для изучения гистопатологических изменений в тканях использованы методы морфологического анализа и гистологического анализа. Этапы исследования и перечень методов, использованных автором на каждом этапе, сгруппированы в отдельную таблицу, что облегчает восприятие материала второй главы.

Третья глава диссертации О.А. Шамсутдиновой посвящена исследованиям специфической безопасности штаммов вируса краснухи, как вакцинных, так и слабо аттенуированных. Первая часть главы содержит результаты исследования возможного тератогенного действия вакцинного штамма «Орлов-В». В качестве препарата сравнения автор обоснованно использовала вакцинный штамм Wistar RA27/3, входящий в состав всех коммерческих вакцин для профилактики краснухи. Применяв клинические, вирусологические, иммунологические, молекулярно-генетические и гистологические методы диссертант убедительно доказала отсутствие тератогенных свойств как штамма «Орлов-В», так и препарата сравнения, а также показала возможность использования метода ПЦР как теста, подтверждающего отсутствие тератогенных свойств вакцинных штаммов для живых вирусных вакцин на этапе их доклинического изучения.

Далее, при изучении остаточной нейровирулентности вакцинного штамма вируса краснухи в тесте интрацеребральной инокуляции обезьян вида *Macaca mulatta*, представлены данные, подтверждающие высокий уровень аттенуации штамма «Орлов-В».

В этой же серии экспериментов диссертант показала, что при интрацеребральном заражении обезьян низкоаттенуированным штаммом вируса краснухи «Орлов-14» имеет место развитие менингоэнцефалита,

выраженная лимфоцитарная инфильтрация, множественные или очаговые васкулиты не только в «точке» введения, но и за ее пределами, а также установила локализацию и степень выраженности морфологических изменений в ЦНС обезьян. Диссертант обоснованно полагает, что эти патоморфологические характеристики могут служить морфометрическими параметрами, отражающими низкий уровень аттенуации штаммов вируса краснухи.

Несомненной практической значимостью обладают результаты третьей главы, показывающие информативность метода ПЦР-РВ при контроле диссеминации аттенуированных штаммов, обосновывающие возможность использования ПЦР-РВ в качестве дополнительного теста при оценке специфической безопасности вакцинных штаммов для живых противовирусных вакцин.

В главе «Обсуждение» приведена трактовка представленных результатов, описывается, насколько использованные методы и полученные в работе данные соответствуют методикам и результатам, полученным ранее в других лабораториях, а также представлены гипотезы о взаимосвязи ранее полученных результатов других исследований с данными собственных экспериментов.

Выводы составлены четко и логично вытекают из материалов диссертации. Диссертационное исследование заканчивается практическими рекомендациями и авторским видением дальнейших перспектив разработки темы исследования.

Автореферат диссертации имеет традиционную структуру и отражает основные положения диссертационной работы. Апробацию результатов работы следует признать достаточной.

ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ СОИСКАТЕЛЕМ РЕЗУЛЬТАТОВ ДЛЯ РАЗВИТИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ОТРАСЛИ НАУКИ

В нашей стране в конце 80-х годов 20-го столетия в НИИЭМ им. Пастера Мешаловой В.Н. был получен отечественный штамм «Орлов», тогда же были проведены и успешные клинические испытания, подтвердившие его высокую иммуногенность и низкую реактогенность, но вакцинный штамм «Орлов» не был внедрен в производство отечественной краснушной вакцины.

Шамсутдинова О.А. провела комплексное изучение тератогенных свойств данного штамма, сравнив его по этим параметрам с RA27/3, оценила возможность использования ПЦР в качестве дополнительного метода при изучении тератогенных свойств аттенуированного штамма вируса краснухи «Орлов-В», изучила его остаточную нейровирулентность на обезьянах вида *Macaca mulatta* с клинической и морфологической оценкой изменений как в ЦНС, так и в периферических органах обезьян при интрацеребральном введении 2-х вакцинных штаммов вируса краснухи с разной степенью аттенуации и возможность выявления РНК вируса из ЦНС и периферических органов методом ПЦР с детекцией в режиме реального времени.

Проделанная Ольгой Анатольевной научно-исследовательская работа позволила получить данные о характеристике биологических свойств высокоаттенуированного вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В», его пригодности для использования в составе вакцинного иммунобиологического препарата, установив при этом отсутствие маркеров врожденной краснушной инфекции. Шамсутдинова О.А. показала низкую остаточную нейровирулентность штамма вируса краснухи и то, что он может при интрацеребральном заражении не только размножаться и распространяться по отделам ЦНС, но и преодолевать гематоэнцефалический барьер, поражая при этом периферические органы обезьян *Macaca mulatta*.

ВОПРОСЫ И ЗАМЕЧАНИЯ

1. Требования к специфической безопасности вакцины (производственных штаммов и посевных вирусов) против краснухи, а также новых вакцинных штаммов вирусов, критерии и методы оценки их специфической безопасности изложены в фармакопейных статьях Государственной Фармакопеи Российской Федерации («ОФС.1.7.2.0010.15 Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи»; ФС.3.3.1.0024.15 Вакцина против краснухи культуральная живая»). Целью исследования является изучение критериев специфической безопасности штаммов для живой аттенуированной вакцины против краснухи. С чем связана необходимость новых критериев и в чем недостаточность старых?

2. Чем обусловлен состав исследуемых групп обезьян (например, при исследовании тератогенного действия, 9 обезьян иммунизировали Орлов-В, 3 - RA27/3, одна - плацебо). Почему исследование не проведено в соответствии с требованиями фармакопейных статей (количество животных в группе, доза, сроки наблюдения)?

3. В работе не представлена подробная характеристика штаммов Орлов-В и Орлов-14, RA27/3, в частности информация о генотипах штаммов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ


Диссертационная работа Шамсутдиновой Ольги Анатольевны на тему: «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи» представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалификационную работу, по актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической значимости отвечающую требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ (утвержденного постановлением Правительства Российской

Федерации от 24.09.2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Шамсутдинова Ольга Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – вирусология.

Диссертация Шамсутдиновой Ольги Анатольевны обсуждена, и отзыв на диссертацию одобрен на конференции отделов вирусологии имени О.Г. Анджaparидзе и иммунологии и аллергологии ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 1 от «06» февраля 2023 г.).

Отзыв подготовлен:

Зав. лабораторией гибридных клеточных культур
ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
доктор медицинских наук

 Нагиева
Фирая
Галиевна

Подпись доктора медицинских наук Нагиевой Ф.Г. заверяю.

Зам. директора ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова
кандидат медицинских наук

О.В. Артемьева

«06» февраль 2023 г.



ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

105064 г. Москва, М. Казенный пер., 5А

www.instmech.ru

тел.: (495) 917-49-00

e-mail: mech.inst@mail.ru