Сведения о результатах публичной защиты диссертации

Шамсутдиновой Ольги Анатольевны

«20» марта 2023 г. на заседании Диссертационного совета 21.1.018.02 состоялась защита диссертации Шамсутдиновой Ольги Анатольевны «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология».

Диссертационная работа выполнена на базе ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»)

Научные руководители:

Карал-оглы Джина Джинаровна – кандидат биологических наук, заместитель директора по научной деятельности, руководитель лаборатории доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий ФГБНУ «НИИ МП»;

Лаврентьева Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Официальные оппоненты:

Игнатьев Георгий Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории опасных и социально-значимых инфекций федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России) представил отрицательный отзыв о диссертации;

Борисевич Сергей Владимирович – академик РАН, доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор, начальник федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «48ЦНИИ» Минобороны России) представил положительный отзыв о диссертации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» предоставила положительный отзыв о диссертации.

Диссертационный совет утвержден в количестве 24 человек. Присутствовали: 19 человек*, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.10 – «вирусология» (биологические науки). По уважительной причине отсутствовали 5 человек.

В голосовании приняли участие 18 человек*: заместитель председателя диссертационного совета 21.1.018.02, академик РАН, д.б.н. Логунов Д.Ю. был вынужден уйти до проведения голосования по причине производственной необходимости.

1	Львов Дмитрий Константинович	академик РАН, доктор медицинских наук, профессор	1.5.10
2	Логунов Денис Юрьевич*	академик РАН, доктор биологических наук	1.5.3
3	Бурцева Елена Ивановна	доктор медицинских наук	1.5.10
4	Альтштейн Анатолий Давидович	доктор медицинских наук, профессор	1.5.10
5	Альховский Сергей Владимирович	член-корреспондент РАН, доктор биологических наук	1.5.10
6	Бутенко Александр Михайлович	доктор биологических наук, профессор	1.5.10
7	Гребенникова	член-корреспондент РАН, доктор	1.5.10

	Татьяна Владимировна	биологических наук, профессор	
8	Дзагурова Тамара Казбековна	доктор медицинских наук	1.5.10
9	Иванова Ольга Евгеньевна	доктор медицинских наук	1.5.10
10	Казеннова Елена Валерьевна	доктор биологических наук	1.5.3
11	Кущ Алла Александровна	доктор биологических наук, профессор	1.5.3
12	Ларичев Виктор Филиппович	доктор медицинских наук	1.5.10
13	Манькин Анатолий Анатольевич	доктор биологических наук, профессор	1.5.3
14	Масалова Ольга Владимировна	доктор биологических наук	1.5.10
15	Николаева Людмила Ивановна	доктор биологических наук	1.5.10
16	Носик Дмитрий Николаевич	доктор медицинских наук, профессор	1.5.10
17	Прилипов Алексей Геннадьевич	доктор биологических наук	1.5.3
18	Урываев Леонид Викторович	член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор	1.5.10
19	Юминова Надежда Васильевна	доктор биологических наук, профессор	1.5.10

Состав счетной комиссии: д.м.н. Ларичев В.Ф. (председатель); члены комиссии – д.б.н. Масалова О.В., чл.- корр. РАН, д.б.н. Альховский С.В.

Результаты тайного голосования по вопросу присуждения Шамсутдиновой Ольге Анатольевне ученой степени кандидата биологических наук: роздано бюллетеней – 18; осталось не розданных бюллетеней – 6; оказалось в урне –

18. Результаты голосования: за присуждение ученой степени кандидата биологических наук Шамсутдиновой Ольге Анатольевне подано голосов – 17, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Постановили: по результатам тайного голосования членов совета (за присуждение ученой степени – 17, против присуждение ученой степени – 1, недействительных бюллетеней – нет) считать, что диссертация Шамсутдиновой Ольги Анатольевны «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи» полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01.10.2018 г., №118 от 24.02.2021 г., №458 от 07.05.2021 г., №1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и присудить Шамсутдиновой Ольге Анатольевне ученую степень кандидата биологических наук.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 21.1.018.02, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф. ГАМАЛЕИ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20 марта 2023 г., №2

О присуждении Шамсутдиновой Ольге Анатольевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Шамсутдиновой Ольги Анатольевны «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология», принята к защите 27 декабря 2022 г. (протокол № 4) Диссертационным советом 21.1.018.02, созданным на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) (адрес: 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18), утвержденным приказом ВАК РФ от 11 апреля 2012 г. №105/нк, в редакции Министерства образования и науки Российской Федерации от 30 октября 2020 г. №661/нк, от 3 июня 2021 г. N561/нк.

Соискатель Шамсутдинова Ольга Анатольевна, 1987 года рождения, гражданка Российской Федерации, окончила в 2009 году государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский университет дружбы народов» с присвоением квалификации физиолог по специальности «физиология» (диплом специалиста № ВСА

0803760, регистрационный номер 57/15 ФИЗ). В 2013 году окончила очную магистратуру в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Кубанский государственный университет» с присвоением квалификации (степени) магистр по направлению подготовки «020400 Биология» (диплом магистра № 102304 0000140, регистрационный номер 38/М-б). С 2017 г. по 2021 г. проходила обучение в очной аспирантуре в федеральном государственном бюджетном научном учреждении "Научно-исследовательский институт медицинской приматологии" (ФГБНУ «НИИ МП»); диплом об окончании аспирантуры выдан 01 августа 2021 г. №102324 3600296, регистрационный номер А-0056.

В период подготовки диссертационной работы (2017 – 2022 гг.) и по настоящее время соискатель Шамсутдинова О.А. работает в лаборатории иммунологии и биологии клетки ФГБНУ «НИИ МП» в должности научного сотрудника.

Диссертация выполнена в лаборатории иммунологии и биологии клетки ФГБНУ «НИИ МП» и в лаборатории экспериментальной вирусологии Федеральном бюджетном учреждении науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

Справка о сдаче кандидатских экзаменов №4 от 07.04.2022 г. выдана ФГБНУ «НИИ МП».

Научные руководители:

Карал-оглы Джина Джинаровна – кандидат биологических наук, заместитель директора по научной деятельности, руководитель лаборатории доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий федерального государственного бюджетного научного

учреждения "Научно-исследовательский институт медицинской приматологии" (ФГБНУ «НИИ МП»).

Лаврентьева Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией экспериментальной вирусологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Официальные оппоненты:

Игнатьев Георгий Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории опасных и социально-значимых инфекций федерального государственного бюджетного учреждения «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России) дал отрицательный отзыв на диссертацию.

Заключение оппонента содержит следующие замечания и вопросы:

Представленная в Главе «Обзор литературы» информация не полностью соответствует теме работы и не позволяет оценить уровень проработанности этой темы и ее актуальности.

Учитывая цель исследования и поставленные соискателем задачи в литературном обзоре следовало отразить:

- информацию о распространенности генотипов вируса краснухи в разных регионах мира и в России;
- информацию о генотипах производственных штаммов;
- информацию об используемых в настоящий момент методов контроля специфической безопасности аттенуированных штаммов, применяемых разными производителями для производства вакцины краснухи, в том числе, конечно, и отечественный опыт.
- автору следовало бы указать, почему описанные в Государственной Фармакопеи РФ метод нейровирулентности и генетической стабильности

недостаточны, и почему их следовало дополнить методом оценки тератогенности;

- дать определение тератогенности в целом и для вируса краснухи в частности, описать методы исследования тератогенности (фармакопейные и не фармакопейные), для каких вакцин применяется, а также указать критерии оценки тератогенности вирусных штаммов;

- информацию об использовании животных для моделирования экспериментальной инфекции, вызванной вирусом краснухи, и отражающую возможность использования обезьян для оценки тератогенности вируса краснухи (какие критерии, как интерпретируются результаты).

Глава «Материалы и методы». Представленная в данной главе информация не полная. Так, в разделе 2.1.1. Штаммы вируса краснухи указывается, что были использованы три штамма: два из них - «Орлов-В», «Орлов-14» полученные из ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера и RA-27/3 входящий в состав коммерческой живой аттенуированной вакцины производства АО «НПО «Микроген». При этом указано, что «Вирусные образцы получены в лиофилизированной форме и хранились при температуре не выше минус 68 С» (стр. 51). Из текста диссертации не ясно, в каком виде был получен образец штамма RA-27/3. Это был образец «производственного штамма» или коммерческая серия. Не представлена информация о номере коммерческой серии вакцины против краснухи культуральной живой аттенуированной, годе ее выпуска и способа получения для исследований. Вакцина, как известно, имеет ограниченный срок годности и ее использование по его окончанию запрещено. Так же не корректно выбрана температура хранения – «не выше минус 68 ^{0}С». У вакцины температура хранения плюс $+2^0$ - $+8^0$С. Если это был образец производственного или посевного штамма вируса краснухи RA-27/3, следовало приложить копию паспорта производителя с характеристикой штамма и его биологическим титром.

Также в этом разделе должна присутствовать конкретная посаженная история каждого из используемых в работе штаммов вируса краснухи, а именно - сколько пассажей и на каких клетках было проведено до использования в эксперименте. Если штамм «Орлов-В», как было указано на странице 41, был ранее рекомендован для производства краснушной вакцины, следовало приложить паспорт этого штамма. Так же следовало указать генотип, к которому этот штамм относится (в целом информация о генотипе штамма «Орлов-В» и штамма «Орлов-14» в диссертации отсутствует). Из текста диссертации, но не из характеристики штаммов, можно предположить, что все использованные автором штаммы в условиях проведения данной работы прошли пассажи на клетках Vero (страница 54).

Одним из критериев специфической безопасности штаммов краснухи в соответствии «ОФС.1.7.2.0010.15 Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи» является генетическая стабильность. При смене субстрата накопления (смене культуре клеток) следовало продемонстрировать генетическую стабильность штаммов (отсутствие нуклеотидных замен) при пассаже на клетках Vero.

Например, штамм RA-27/3, в соответствии с информацией производителя АО «НПО «Микроген» пассируется на аттестованных клетках MRC-5. Определена нуклеотидная последовательность производственного и посевного штаммов. Данные о структуре штамма RA-27/3 АО «НПО «Микроген» есть в открытом доступе (GenBank), а исследования – опубликованы. Сравнительные данные нуклеотидной последовательности производственного и посевного штаммов RA-27/3 вируса краснухи являются доказательством его генетической стабильности. Представленный в диссертации материал позволяет предположить, что автор, сделал 2-3 последовательных пассажа на клетках Vero и этот вирусный материал использовал для своих исследований. То есть автор использовал не вакцинный штамм RA-27/3, а некий вариант штамма, пассированный на Vero, RA-27/3-vero. Сравнение нуклеотидной последовательности RA-27/3–

vero с последовательностью вакцинного штамма RA-27/3, что позволило бы сделать заключение об их идентичности, автором не проводилось. Во всяком случае таких данных в работе не представлено.

Описывая культуры клеток следовало указать, на каком пассаже были эти клетки, источник их получения с приложением копии паспорта.

При исследовании тератогенных свойств штамма «Орлов-В» (2.2.3.1., 2.2.4.1) отсутствует аргументация о выборе внутримышечного способа иммунизации. Как известно, тератогенный потенциал вируса краснухи проявляется в развитии синдрома врожденной краснухи (СВК). Описаны и хорошо изучены симптомы СВК для человека. Внутриутробные поражения эмбриона человека зависят от периода гестации. автором в разделе 1.2 приведены данные и описаны патогенетические признаки СВК у человека. В работе присутствует некорректно используемая ссылка №2 на работу А.Ю. Антиповой, в которой даны определения тератогенного свойства вируса краснухи и симптомы СВК у человека в зависимости от периода гестации. Также методология эпиднадзора за СВК, его лабораторного подтверждения и классификация имеется в документе ВОЗ 2018 года. Автор не использует критерии СВК для человека при оценке тератогенных свойств штаммов вируса краснухи в своем исследовании, как и не дает описания модели и критериев СВК у обезьян. В работе отсутствует информация о методе рентгенологического обследования, его стандартности у обезьян. Отсутствует аргументация однократности и сроках его проведения. Отсутствует описание методики оценки двигательной активности и рефлексов у детёнышей иммунизированных обезьян. По какой шкале проводилась оценка и как обрабатывались результаты из текста диссертации непонятно.

При проведении серологических исследований были использованы наборы реагентов производства АО «Вектор-Бест» и НПО «Эколаб-диагностика». Эти наборы зарегистрированы для проведения исследований с образцами, полученными от человека. Отсутствует аргументация о

возможности этих наборов для исследований сывороток крови обезьян, насколько конъюгат в использованных наборах специфичен для выявления IgM и IgG обезьян вида *Macaca mulatta*.

При проведении гистологического исследования (2.2.9) патоморфологические изменения в ЦНС оценивали по 4-бальной шкале. Автор указывает, «как описано в «ОФС. 1.7.2.0010.15 Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори паротита и краснухи»». Не совсем корректное использование ссылки, так как фармакопейный метод использовался в авторской интерпретации.

Раздел 3.1.

Следует отметить, что необходимость исследования тератогенных свойств вакцинных штаммов отсутствует, так как применение вакцины против краснухи противопоказано беременным в соответствии с инструкциями производителей.

Отсутствует информация:

- какие показатели/симптомы являются доказательством наличия тератогенных свойств вируса краснухи у обезьян вида *Macaca mulatta*;

- являются ли обезьяны вида Macaca mulatta животными, которые рекомендованы для моделирования краснушной инфекции и, в частности, синдрома врождённой краснухи.

Отсутствует аргументация:

- использования только «вакцинных» штаммов «Орлов-В» и RA27/3 и отсутствие в эксперименте для сравнения «низкоаттенуированного» штамма «Орлов-14» доступного автору. Этот штамм мог быть «положительным» контролем, если бы его введение оказало тератогенное действие;

- разного размера групп (9 обезьян иммунизированы штаммом «Орлов-В», 3 - штамм RA27/3, одна – плацебо). В таблице 5 в 8 случаях отсутствуют данные о весе. Статистический анализ результатов при сравнении показателей между группами некорректен;

- однократного определения IgM в сыворотке детёнышей лишь на 30 сутки после рождения.

Таким образом отсутствие вышеперечисленной информации и аргументации в разделе 3.1. не позволяют сделать вывод 1.

Если основанием для вывода 2 являются «результаты» представленные на странице 69 и рисунке 6, то надо отметить, что отсутствие детекции РНК вируса краснухи в органах мертворожденных детенышей не может иллюстрировать и доказывать отсутствие тератогенных свойств. Необходимо отметить, что в целом отсутствие каких-либо критериев тератогенных свойств вируса краснухи, а также отсутствие положительного контроля с доказанными тератогенными свойствами не позволяют сделать вывод об отсутствии тератогенности у изученных штаммов.

Необходимо также отметить, что использование ПЦР в данной работе никак не соответствует заявленным задачам исследования. Набор реагентов «АмплиСенс Rubella virus – Eph» не предназначен для определения участка генома вируса, связанного с тератогенными свойствами. Разработчик набора реагентов «АмплиСенс Rubella virus – Eph» вообще не открывает структуру праймеров и место их «посадки» - то есть не известно участок какого гена вируса краснухи амплифицируются. Это диагностическая система для определения РНК вируса, и не предполагается к использованию для других целей. Этот факт также не позволяет сделать вывод 2.

Раздел 3.2.

Оценка нейровирулентности штаммов производственных и посевных штаммов краснухи является составной частью специфической безопасности и отражена в «ОФС.1.7.2.0010.15 Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи» Государственной Фармакопеи Российской Федерации. В ней четко сказано, что данная ОСФ содержит подробное описание метода оценки специфической безопасности (остаточной нейровирулентности) производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи,

используемых для изготовления живых вирусных вакцин. Проведение исследований в строгом соответствии с методами, регламентированными Государственной Фармакопеей позволяет в дальнейшем правильно интерпретировать и сопоставлять результаты. Автор ссылается на данную статью на странице 81 в части оценки морфологических поражений ЦНС обезьян. Однако автор воспроизвёл метод не в соответствии с ОФС. В упомянутой «ОФС.1.7.2.0010.15» четко описаны условия проведения исследования и интерпретация результатов. На каждое испытание (штамма) должно использоваться 10 серонегативных животных. Автор использовал другое количество животных для штамма RA27/3 (две обезьяны). Также автором изменён объём введения вируссодержащего материала. Вместо регламентированного ОФС объёма 0.5 мл автор использовал 0.25 мл. Наблюдение за обезьянами, используемыми в тесте оценки остаточной нейровирулентности, согласно ОФС, проводят ежедневно в течение 17-21 суток, автор проводил наблюдение и оценивал результат на 28 сутки. В тексте диссертации причины изменений, внесённых в фармакопейный метод оценки нейровирулентности при оценке безопасности штаммов краснухи не объяснен и результат не проинтерпретирован.

Раздел 3.3.

Замечание к проведению сравнительной оценки нейровирулентности вариантов штамма вируса краснухи «Орлов» с разным уровнем от аттенуации в методической части те же, как и в разделе 3.2. Автор воспроизвёл метод не в соответствии с «ОФС.1.7.2.0010.15 Оценка специфической безопасности производственных штаммов и посевных вирусов кори, паротита и краснухи». Дополнительно, автор не объясняет, почему животные были инфицированы разными дозами штамма «Орлов-14»: 2 обезьяны были инфицированы дозой 4.7 lg $ТЦД_{50}$/0,5 мл, и еще 2 - дозой 3.8 lg $ТЦД_{50}$/0,5 мл. Также количество животных в группах не соответствовало ОФС и было разным (4 обезьяны инфицированы штаммом «Орлов-В», 4 обезьяны - штаммом «Орлов-14» и 2 – «штаммом» RA27/3). Соискатель не

объясняет, почему был выбран такой дизайн и как можно сопоставлять результаты, полученные на одном животном и на разных сроках наблюдения.

Отдельного замечания заслуживают результаты выделения вируса краснухи (каждого из использованных штаммов) на культуре клеток и детекции РНК вируса методом ПЦР-РВ в тех же органах и на те же сроки. Результаты представлены в таблицах 21 (биологический титр) и 22 (ПЦР-РВ по показателю Ct). Автору следовало оценить корреляцию между результатами детекции вируса двумя разными методами. Это позволило бы сделать более убедительным вывод о бОльшей чувствительности метода ПЦР-РВ.

В разделе 2.2.7.2. (страница 61) автор пишет, что при проведении ПЦР-РВ положительными считались образцы, у которых кривая флуоресценции имела типичный для ПЦР в «реальном времени» S-образный вид, однократно пересекалась с пороговой линией в области достоверного прироста флуоресценции и значение порогового цикла (Ct) не превышало значение 35. В этом случае результаты, полученные на 2 сутки с образцами шейного отдела спинного мозга и на 12-е сутки с поясничным отделом спинного мозга следует считать отрицательными (таблица 22). В тексте диссертации, а именно в таблице 22 указано, что в плазме крови обезьян, инфицированных штаммом «Орлов-14» на 12-е и 21-е сутки методом ПЦР-РВ определялась вирусная РНК. Но в таблице 21, в которой представлены результаты титрования на клетках, данные об определении вируса в плазме отсутствуют. В целом по разделу 3.3. не понятно, какие данные позволяют автору сделать заключение, что аналитическая чувствительность метода ПЦР-РВ превышает аналитическую чувствительность реакции ЦПД на 1,7 – 3,3 lg. В силу вышеизложенного 5 вывод «Показана информативность метода ПУР-РВ при контроле диссеминации аттенуированных штаммов и возможность использования ПЦР-РВ в качестве дополнительного теста при оценке специфической безопасности вакцинных штаммов для живых

противовирусных вакцин» спорен и не подтвержден собственными данными автора.

Борисевич Сергей Владимирович – академик РАН, доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор, начальник федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ «48ЦНИИ» Минобороны России) дал положительный отзыв на диссертацию, содержащий следующие вопросы и замечания:

1. Не совсем понятно, почему в подпункте 2.2.7.2 автор указывает, что он использовал для выявления РНК вируса краснухи использовался устаревший молекулярно-биологический метод ОТ-ПЦР (обратно-транскрипционная полимеразная цепная реакция), хотя в пункте 3.3.5 им применяется ПЦР-РВ (полимеразная цепная реакция в реальном времени).
2. В ходе изучения тератогенных свойств вакцинных штаммов «Орлов-В» и RA27/3 вируса краснухи (таблица 4) соискатель использовал в группах разное количество обезьян: 9, 3 и 1, соответственно. Чем обусловлено такое разделение?
3. Имеются не выправленные стилистические, пунктуационные ошибки и опечатки (стр. 18, 19, 21, 23, 25, 48, 96 и др.).

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова) – в своем положительном заключении, составленном и подписанном заведующей лабораторией гибридных клеточных культур, доктором медицинских наук Нагиевой Фарией Галиевной (протокол №1 от 06 февраля 2023 г.) и утвержденным директором ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова, доктором медицинских наук, член-корреспондентом РАН Свитич Оксаной Анатольевной, указала, что «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.

Заключение ведущей организации содержит следующие 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 («ОСФ.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 иммунизированны Орлов-В, 3 – RA27/3, одна плацебо). Почему исследование не проведено в соответствии с требованиями фармакопейных статей (колличество 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.

По результатам диссертации опубликовано 15 печатных работ, 5 из которых – в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией.

Все заявленные Шамсутдиновой О.А. научные работы по теме диссертации являются подлинными, достоверность сведений о публикациях подтверждается представленными ксерокопиями.

Наиболее значимые работы, опубликованные по теме диссертации:

1. **Шамсутдинова, О.А.** Сравнительный анализ остаточной нейровирулентности вакцинного и низкоаттенуированного штаммов вируса краснухи (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubellavirus*) в эксперименте на обезьянах вида макак резус (*Macaca mulatta*) / О.А. Шамсутдинова, Д.В. Булгин, Д.Д. Карал-оглы, И.Н. Лаврентьева, И.Н. Клоц// Вопросы вирусологии. 2022. – Т.67, №2. – С. 133-141.
2. **Шамсутдинова, О.А.** Использование ПЦР-РВ как теста, подтверждающего отсутствие остаточной нейровирулентности штаммов для живых противовирусных вакцин / О.А. Шамсутдинова, Д.Д. Карал-оглы, И.Н. Лаврентьева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2022. – Т.99, №2. – С. 185-192.
3. **Шамсутдинова, О.А.** Изучение морфологических изменений в ЦНС и внутренних органах обезьян *Macaca mulatta* при интрацеребральном введении низкоаттенуированного штамма вируса краснухи / О.А. Шамсутдинова, Д.В. Булгин, Д.Д. Карал-оглы, И.Н. Лаврентьева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021. - Т.171, №5. – С.651-655.
4. Лаврентьева, И.Н. Изучение тератогенности вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» (*Matonaviridae: Rubivirus: Rubellavirus*) в опыте на обезьянах макак-резус / И.Н. Лаврентьева, **О.А. Шамсутдинова**, И.И. Чугуева, Д.Д. Карал-оглы, О.И. Вышемирский // Вопросы вирусологии. 2020, - Т. 65, №6. – С.357-363

5. **Шамсутдинова, О.А.** Живые аттенуированные вакцины для иммунопрофилактики / О.А. Шамсутдинова // Инфекция и иммунитет. 2017. – Т.7, №2. – С.107-116.

Общий объем научных публикаций составил 4,72 печатных листов (авторский объем - 2,33 печатных листа).

Оригинальность диссертационной работы, определенная по системе «Антиплагиат», составляет – 93,79 %.

На автореферат диссертации Шамсутдиновой О.А. поступили отзывы от:

- Исаковой-Сивак Ирины Николаевны – доктора биологических наук, члена-корреспондента РАН, заведующей лабораторией иммунологии и профилактики вирусных инфекций отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (ФГБНУ ИЭМ). Отзыв положительный и не содержит критических замечаний;

- Матуа Алисы Зауровны – кандидата биологических наук, заместителя директора по научной работе, заведующей лабораторией иммунологии и вирусологии государственного научного учреждения «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии». Отзыв положительный и не содержит критических замечаний;

- Рыбкина Владимира Семеновича – доктора медицинских наук, профессора кафедры микробиологии и вирусологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России). Отзыв положительный и не содержит критических замечаний.

- Савельева Александра Павловича – доктора медицинских наук, профессора и Мисникова Олега Павловича – доктора биологических наук, профессора, старших научных сотрудников 34 НИИО 3 НИУ НИИЦ (МБЗ) федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научно-исследовательский институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации (ФГБУ ГНИИИВМ МО РФ). Отзыв положительный, содержит следующие вопросы и замечания:

1. Нельзя признать вполне корректным, что сформулированная автором цель исследования полностью дублирует название диссертации. Более правильным, по-нашему мнению, было бы изложить цель с детализацией критериев эффективности и специфической безопасности вакцинных штаммов.
2. Из автореферата не ясно, какие конкретно рекомендации предлагается внести в действующие нормативные документы, регламентирующие вопросы доклинического изучения безопасности ИЛП?
3. В виде каких документов результаты диссертации внедрены в практику работы лаборатории доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий ФГБНУ «НИИ МП»?
4. В работе представлены данные о всесторонней оценке перспективного вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В», эндемичного для регионов нашей страны. Однако для обоснования возможного использования в производстве данного штамма взамен или одновременно с применяемыми отечественными вакцинными препаратами на основе штамма RA27/3 целесообразно проведение сравнительных испытаний их иммуногенной активности и реактогенности;

- Никитина Николая Александровича – доктора биологических наук, профессора кафедры вирусологии биологического факультета федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.

Ломоносова» (ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова). Отзыв положительный, содержит следующее замечание:

1. Хотелось бы обратить внимание на вывод №5 и отметить, что не совсем корректно связывать использование метода ПЦР-РВ с оценкой безопасности вакцинных штаммов, которая определяется только путем выявления патоморфологических исследований органов исследуемых животных.

Во всех поступивших отзывах отмечается актуальность изучения критериев специфической безопасности штаммов для живой аттенуированной вакцины против краснухи; сделан вывод о том, что диссертация Шамсутдиновой О.А. соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01.10.2018 г., №118 от 24.02.2021 г., №458 от 07.05.2021 г., №1539 от 11.09.2021 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология».

В отзывах, содержащих замечания, указывается, что последние не влияют на положительную в целом оценку работы, не снижают ценности защищаемой диссертации.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается известностью специалистов и организации в области изучаемой проблемы и наличием у них научных публикаций по изучаемой диссертантом проблеме.

Диссертационный совет отмечает, что на основе выполненных соискателем исследований:

- **представлены данные**, подтверждающие отсутствие тератогенных свойств как у вакцинного штамма вируса краснухи «Орлов-В» с инфекционной дозой 3,0 lg $ТЦД_{50}$/0,5 мл, так и у штамма RA27/3 с

инфекционной дозой 3,0 lg $ТЦД_{50}$/0,5 мл, использованного в качестве препарата сравнения и входящего в состав коммерческих вакцин против краснухи, в опыте на обезьянах вида *Macaca mulatta*;

- **показана** возможность использования метода ПЦР как теста, подтверждающего отсутствие тератогенных свойств штаммов для живых вирусных вакцин на этапе их доклинического изучения;

- **определен** высокий уровень аттенуации штамма «Орлов-В» при изучении остаточной нейровирулентности вакцинного штамма вируса краснухи в тесте интрацеребральной инокуляции обезьян вида *Macaca mulatta*, а именно отсутствие клинических проявлений поражения ЦНС в течение всего периода наблюдения и вирусспецифических поражений в индикаторых отделах ЦНС: передней и задней центральных извилинах, таламусе (зрительные бугры), среднем мозге, варольевом мосту, мозжечке, продолговатом мозге и шейном и поясничном утолщениях спинного мозга;

- **определена** локализация и степень выраженности морфологических изменений в ЦНС обезьян, интрацеребрально инокулированных низкоаттенуированным штаммом вируса краснухи. Наличие выраженной лимфоцитарной инфильтрации, множественных или очаговых васкулитов в месте введения и за его пределами, а также менингоэнцефаломиелит могут служить морфометрическими параметрами, отражающими низкий уровень аттенуации штаммов вируса краснухи;

- **показана** информативность метода ПЦР-РВ при контроле диссеминации аттенуированных штаммов и возможность использования ПЦР-РВ в качестве дополнительного теста при оценке специфической безопасности вакцинных штаммов для живых противовирусных вакцин.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы состоит в том, что:

- **показана** возможность использования альтернативной по отношению к классическим патоморфологическим методам стратегии доклинической оценки специфической безопасности противовирусных вакцин с

применением комплекса клинических, иммунологических, патоморфологических, вирусологических и молекулярно-генетических методов.

- **показана** высокая степень аттенуации вакцинного штамма «Орлов-В» вируса краснухи – отсутствие тератогенных свойств и остаточной нейровирулентности, что свидетельствует о специфической безопасности данного штамма и создает реальные предпосылки для дальнейшего изучения штамма.

- **получены** патоморфологические данные, которые могут служить морфометрическими параметрами, отражающими низкий уровень аттенуации штаммов вируса краснухи. Установлено, что при низком уровне аттенуации штаммов вируса краснухи при интрацеребральном введении обезьянам, вирус может пересекать гематоэнцефалический барьер, поражая периферические органы обезьян.

- **реализовано** практическое применение разработанных методов контроля тератогенных свойств вакцинных штаммов вируса краснухи в опыте на обезьянах вида *Macaca mulatta*; контроля экстраневральной диссеминации аттенуированных штаммов вируса краснухи при оценке специфической безопасности вакцинных штаммов, в тесте интрацеребрального заражения обезьян. Результаты диссертационной работы внедрены в научно-практическую деятельность лаборатории доклинических и клинических исследований лекарственных средств и медицинских изделий ФГБНУ «НИИ МП».

- **реализовано** практическое применение результатов работы в учебном процессе департамента биомедицинских, ветеринарных и экологических направлений Сочинского института (филиала) Российского университета дружбы народов.

Применительно к проблематике диссертации результативно (с получением обладающих новизной результатов):

- **впервые проведено** комплексное изучение тератогенных свойств вакцинного штамма «Орлов-В» вируса краснухи, установившее отсутствие маркеров врожденной краснушной инфекции у детенышей, родившихся от обезьян, привитых во время беременности;

- **впервые показано**, что метод ПЦР-РВ может быть использован для контроля экстраневральной диссеминации аттенуированных штаммов при оценке специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи;

- **впервые установлен** низкий уровень остаточной нейровирулентности штамма «Орлов-В» вируса краснухи в тесте интрацеребрального заражения обезьян, что подтверждает ареактогенность вакцинного штамма;

- **впервые получены** новые сведения о локализации и степени выраженности морфологических изменений в ЦНС обезьян, интрацеребрально инокулированных вакцинными и низкоаттенуированным штаммами вируса краснухи;

- **впервые установлено**, что низкоаттенуированный штамм вируса краснухи при интрацеребральном введении обезьянам не только размножается и распространяется по отделам ЦНС, но и преодолевает гематоэнцефалический барьер, поражая периферические органы обезьян.

Достоверность результатов исследования подтверждается достаточным количеством экспериментальных животных, использованных в исследовании, использованием современных методов, которые соответствуют поставленным в работе цели и задачам, воспроизводимостью всех полученных результатов. Выбранные методы статистической оценки результатов адекватны проведенным экспериментам и поставленным задачам. Обсуждение результатов проведено с учетом современных требований и методических подходов медицинской и биологической науки. Научные положения и выводы, изложенные в диссертации, обоснованы и подтверждены фактическим материалом.

Личный вклад соискателя. Автор непосредственно осуществлял планирование экспериментов, постановку цели и задач исследования, обработку полученных данных. Автор лично проводил определение противокраснушных антител в сыворотках крови обезьян; выделение РНК вируса краснухи из клинического материала и постановку ОТ-ПЦР; выявление вируса краснухи в биологическом материале с помощью культурального метода. Клиническое наблюдение за экспериментальными животными проводилось совместно с ветеринарным врачом Чугуевой И.И. (ФГБНУ «НИИ МП»). Рентгенологическое исследование структуры костного аппарата детенышей проводилось совместно со старшим научным сотрудником, врачом-рентгенологом, к.м.н. Симавонян К.В. (ФГБНУ «НИИ МП»). Аутопсия и гистологическое исследование ЦНС и внутренних органов инокулированных животных проводились совместно с сотрудниками лаборатории патологической анатомии ФГБНУ «НИИ МП» (заведующим лабораторией патологической анатомии, к.м.н. Булгин Д.В. и старшим научный сотрудник лаборатории патологической анатомии, к.м.н. Леонтюк А.В.).

Результаты исследования могут быть использованы при разработке и проведении доклинических исследований безопасности аттенуированных штаммов вируса краснухи, кандидатов в вакцинные, и при исследовании безопасности аттенуированных штаммов для других живых противовирусных вакцин.

В ходе защиты диссертации были сделаны следующие вопросы: 1) о целесообразности применения в работе (при проведении серологических исследований с сывороткой крови обезьян) наборов реагентов производства АО «Вектор-Бест» и НПО «Эколаб-диагностика», зарегистрированных для проведения исследований с образцами, полученными от человека, а также о степени специфичности коньюгата в использованных наборах для выявления IgM и IgG обезьян вида Macaca mulatta; 2) о целесообразности использования обезьян вида Macaca mulatta в качестве модели для изучения специфической

безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи; 3) об использовании разного числа обезьян в опытных, референсных и контрольных группах животных; 4) о целесообразности использования культуры клеток ВНК-21 для проведения изучения инфекционной активности вируса краснухи методом титрования; 5) об интерпретации результатов выявления РНК методом ПЦР-РВ в тканях ЦНС и периферических органах животных, интрацеребрально зараженных штаммами вируса краснухи с разным уровнем аттенуации.

Соискатель Шамсутдинова О.А. привела аргументацию ответов на заданные вопросы.

Заключение:

Таким образом, диссертационная работа Шамсутдиновой Ольги Анатольевны на тему «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 – «вирусология» является квалификационной научной работой, в которой содержится решение научно-практической задачи по изучению критериев специфической безопасности штаммов для живой аттенуированной вакцины против краснухи.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации. По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертационная работа Шамсутдиновой Ольги Анатольевны на тему «Изучение специфической безопасности вакцинных штаммов вируса краснухи» полностью соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года (в редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1168 от 01.10.2018 г., №118 от

24.02.2021 г., №458 от 07.05.2021 г., №1539 от 11.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

На заседании 20 марта 2023 года диссертационный совет принял решение присудить Шамсутдиновой Ольге Анатольевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.10 – «вирусология», из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 17, против – 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета
21.1.018.02 академик РАН, д.м.н., профессор Д.К. Львов

Ученый секретарь диссертационного совета Е.И. Бурцева
21.1.018.02 д.м.н.

«20» марта 2023 г.