

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера

академик РАН, д.м.н., профессор

А.А. Тотолян

« 22 » декабря 2025 г.

М.П.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации

Матюшенко Виктории Аркадьевны

на тему **«Особенности подготовки вакцинных штаммов для производства живой гриппозной вакцины на перевиваемых клеточных культурах»**,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.10 – «Вирусология»

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертация Матюшенко В.А. посвящена изучению адаптации штаммов живой гриппозной вакцины (ЖГВ) против пандемических, потенциально пандемических и сезонных вирусов гриппа к культуре клеток MDCK.

Грипп – тяжелое инфекционное заболевание, широко распространенное по всему миру и вызывающее ежегодные эпидемии. Общеизвестно, что наиболее эффективным способом борьбы с гриппом является вакцинация, и ввиду высокой изменчивости вируса, Всемирная Организация Здравоохранения каждый год актуализирует состав вакцинных штаммов для северного и южного полушарий. Известно, что живая гриппозная вакцина является эффективным средством профилактики гриппа, индуцируя стойкий гуморальный и клеточный иммунитет, что способствует созданию коллективного иммунитета. В настоящее время гриппозные вакцины в мире производят либо в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ), либо в

культурах клеток. При этом производство ЖГВ ведется только с использованием куриных эмбрионов, а переход на культуральное производство обсуждается уже более двух десятилетий. Поскольку культуральная ЖГВ имеет ряд преимуществ, включая снятие ряда противопоказаний к ее применению и возможность быстрой наработки биомассы для производства вакцины в необходимом количестве, актуальность выбранной темы не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций

В результате проведенных исследований получены комплексные экспериментальные данные, обосновывающие принципиальную возможность использования вакцинных штаммов, подготовленных на куриных эмбрионах, для производства ЖГВ на культуре клеток MDCK. Впервые проведена всесторонняя характеристика антигенно схожих вирусов гриппа A(H2N2) начала пандемической волны, различающихся рецепторной специфичностью, при их адаптации к культуре клеток млекопитающих, а также установлено, что аминокислотная замена P221S в HA1 субъединице гемагглютинаина вируса гриппа A(H2N2) носит характер escape-мутации, т.е. позволяет вирусу с аминокислотой 221S «ускользнуть» от антител, выработанных к вирусам с аминокислотой 221P. Кроме этого, в исследовании впервые установлено, что клеточно-адаптационные мутации различных вакцинных штаммов одного подтипа имеют стерически схожее расположение в молекуле гемагглютинаина, а подтип A(H3N2) вируса гриппа A наиболее сильно подвержен антигенному дрейфу при адаптации штаммов к культуре клеток MDCK. Также убедительно доказано, что адаптационные аминокислотные замены в моновалентных препаратах культуральной ЖГВ не оказывают значимого влияния на репродуктивную активность *in vitro* и кросс-реактивные свойства вакцинных штаммов, а все исследуемые вакцинные штаммы после адаптации к культуре клеток MDCK сохраняют полный спектр аттенуирующих мутаций, что свидетельствует о сохранении профиля безопасности, соответствующего

требованиям к живым аттенуированным вакцинам. Разработана экспериментальная модель адаптации классических вакцинных штаммов ЖГВ, подготовленных в РКЭ, к культуре клеток MDCK, воспроизводящая технологический процесс производства клеточной вакцины.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Результаты исследований подтверждены статистическим анализом с применением адекватно подобранных критериев описательной и аналитической статистики. Основные материалы работы доложены на 9 международных и отечественных конференциях вирусологического и медико-биологического профиля. По материалам диссертационного исследования опубликовано 14 печатных работ, из которых 7 научных статей, входящих в международные системы цитирования и реферативные базы данных Web of Science и/или Scopus, и 7 тезисов докладов на отечественных и международных научных конференциях.

Основные положения, выносимые на защиту, отражающие новизну и практическую значимость работы, полностью вытекают из результатов исследования, четко сформулированы, хорошо аргументированы.

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Диссертационное исследование Матюшенко В.А. несомненно обладает как теоретической, так и практической значимостью. Поскольку рецепторная специфичность молекулы гемагглютинаина является одним из ключевых факторов успешной адаптации зоонозных вирусов гриппа к человеку, в настоящем исследовании проанализировано ее влияние на репродукцию таких вирусов в различных системах культивирования, оценена генетическая стабильность вирусов с различной рецепторной специфичностью при многократном пассировании в клетках MDCK и даны рекомендации по выбору пандемических штаммов для производства ЖГВ на клеточных культурах.

Общеизвестен тот факт, что вакцинные штаммы вирусы гриппа А(Н3N2) в последних эпидемических сезонах обладали недостаточной эффективностью против этого подтипа. В диссертационной работе Матюшенко В.А. предложено одно из решений этой проблемы, которое заключается в выделении оптимального варианта вируса и подготовка на его основе вакцинного штамма. Кроме того, диссертационное исследование показывает роль отдельных точечных мутаций, возникающих в молекулах гемагглютиниона и нейраминидазы после адаптации штаммов ЖГВ, изначально подготовленных в куриных эмбрионах, в проявлении их биологических свойств. Это позволит в будущем получить новый вакцинный препарат с оптимальными свойствами, сочетающими в себе высокую урожайность, оптимальную кросс-реактивность и повышенную иммуногенность, при полном сохранении профиля безопасности для человека.

Научные данные, полученные Матюшенко В.А. в ходе диссертационного исследования, предоставляют необходимое экспериментальное обоснование возможности применения реассортантов, полученных в РКЭ, для производства ЖГВ на культуре клеток млекопитающих. Реализация данного подхода позволит расширить показания к применению культуральной ЖГВ, включив группы населения с аллергией на куриный белок, в частности детей младшего возраста, у которых данная аллергия проявляется наиболее часто. Результаты, полученные в диссертационном исследовании, лягут в основу регуляторных документов для регистрации живых гриппозных вакцин, производимых на клеточных культурах.

Содержание диссертации и полнота изложения ее материалов в опубликованных работах

Общий объем диссертации составляет 148 страниц. Диссертация построена по традиционному плану и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы и список использованной литературы,

включающий в себя 238 ссылок на отечественные и зарубежные научные статьи. Работа включает в себя 14 таблиц и проиллюстрирована 28 рисунками.

Первая глава посвящена обзору данных литературы по теме исследования на основании публикаций с 1970 по 2025 г.г. Автором приведено описание основных свойств вируса гриппа А, строение молекул гемагглютинина и нейраминидазы, отдельно освещены причины регулярных эпидемий вируса гриппа, а также причины возникновения пандемий гриппа в 1957 и 1968 годах. После чего структурированы типы гриппозных вакцин, описаны известные адаптационные мутации в поверхностных антигенах вируса гриппа А подтипов H1N1, H3N2, H5N1 и H7N9. Следует отметить, что литературный обзор написан понятно и логично, что безусловно является достоинством работы.

Во второй главе представлена информация об использованных в работе материалах и методах исследования. В работе применялся широкий спектр вирусологических, молекулярно-генетических, иммунологических методов, а также методов работы с животными. Полученные данные обработаны с применением адекватных статистических методик. В сумме хочется отметить высокий методический уровень исследования и полное соответствие выбранных методик поставленным задачам.

В третьей главе автором представлены результаты собственных исследований, разделенные на 4 части, где проводится изучение влияния рецепторной специфичности пандемического штамма вируса гриппа А(H2N2) 1957 года на репродукцию вируса, его иммуногенность и антигенность. Затем, методами обратной генетики получена пара вакцинных штаммов с различной рецепторной специфичностью и также проведены исследования их иммуногенности и кросс-реактивности. Автор провел адаптацию штаммов ЖГВ против эпидемических вирусов гриппа А(H1N1) и А(H3N2), а также против потенциально пандемических штаммов А(H5N1) и А(H7N9), исследовал влияние обнаруженных адаптационных мутаций на репродукцию, иммуногенность и антигенность. В заключительной части собственных

исследований автор показал, что адаптационные мутации сезонных штаммов ЖГВ в лабораторном и производственном масштабе стерически схожи внутри подтипа, а подтип А(Н3N2) наиболее изменчив среди всех исследованных вирусов.

В заключительной части приведено обсуждение данных, полученных в ходе исследования, результаты работы сопоставлены с данными других авторов. Описаны перспективы производства клеточной живой гриппозной вакцины в условиях патентных ограничений.

Выводы диссертации представлены четко и обоснованно вытекают из ее материалов.

Аннотация диссертации адекватно отражает ее основные положения и содержание. Апробацию результатов работы, проведенной за период 2013-2025 гг., следует признать достаточной: по теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из которых 7 научных статей в рецензируемых журналах, входящих в международные системы цитирования и реферативные базы данных Web of Science и/или Scopus, и 7 тезисов докладов на отечественных и международных научных конференциях.

Из замечаний к работе следует отметить следующее. В результатах автор проверяет сохранность аттенуирующих мутаций во внутренних генах MDCK-адаптированных вакцинных штаммов, однако, методика оценки наличия данных мутаций не приведена, как и сам набор аттенуирующих мутаций. В тексте диссертации встречаются неудачные стилистические обороты.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Данные, полученные в диссертационном исследовании, носят как практический, так и фундаментальный характер. Полученные в работе результаты могут найти применение в производстве культуральной живой гриппозной вакцины. Результаты исследования можно также использовать для рекомендации по выбору оптимального штамма для гриппозных вакцин в случае развития пандемии гриппа H2N2.

Заключение

Диссертационная работа Матюшенко Виктории Аркадьевны на тему «Особенности подготовки вакцинных штаммов для производства живой гриппозной вакцины на перевиваемых клеточных культурах», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.10 – Вирусология», представляет собой самостоятельно выполненную и законченную научно-квалифицированную работу, содержащую результаты изучения особенностей адаптации к культуре клеток млекопитающих штаммов живой гриппозной вакцины против сезонного и пандемического гриппа, полученных в развивающихся куриных эмбрионах.

По научной новизне, актуальности, объему проведенных исследований, методическому уровню, научной ценности и практической значимости результаты диссертационной работы отвечают требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении 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 28.08.2017г.; №1168 от 01.01.2018 г.; №426 от 20.03.2021г. с изменениями в действующей редакции от 18.03.2023г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Матюшенко Виктория Аркадьевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 - Вирусология.

Отзыв обсужден и одобрен 01.12.2025 г. на заседании проблемной комиссии по специальности «Вирусология» Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 3/25 от 01.12.2025 г.).

Зам. директора по научной работе
ФБУН «НИИ эпидемиологии и
микробиологии имени Пастера»,
кандидат медицинских наук



В.Г. Дедков

Подпись В.Г Дедкова подтверждаю,
начальник ОК ФБУН «Санкт-Петербургский
научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»



Чебакова Л.В.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

197101, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, дом 14.
Телефон +7(812)233-20-92
<https://www.pasteurorg.ru/>