

**ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА  
Д 208.020.01 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ВИРУСОЛОГИИ И  
БИОТЕХНОЛОГИИ «ВЕКТОР» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В  
СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА  
(ФБУН ГНЦ ВБ «ВЕКТОР» РОСПОТРЕБНАДЗОРА) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК.**

Аттестационное дело № 13/6-360 Д 14.10.2016,  
решение диссертационного совета от 17 марта 2017г. протокол №5 о  
присуждении Комиссарову Александру Владимировичу, гражданину  
Российской Федерации ученой степени доктора биологических наук по  
специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии),  
биологические науки.

Диссертация «Разработка и совершенствование биотехнологических  
этапов промышленного производства холерной химической вакцины» по  
специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии),  
биологические науки принята к защите 15 июня 2016 г., протокол № 7,  
диссертационным советом Д 002.146.01 на базе Федерального  
государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и  
физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук  
(ИБФРМ РАН), 410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов, д.13, приказ  
Министерства образования и науки РФ №1902-1267 от 3.10.2008 г. (с  
изменениями в соответствии с приказом № 464 н/к от 23.07.2014 г.). Текст  
диссертации был размещен на официальном сайте ИБФРМ РАН в сроки,  
установленные Положением о присуждении ученых степеней. Текст  
объявления о предстоящей защите вместе с авторефератом были размещены  
на сайте ВАК РФ и на официальном сайте ИБФРМ РАН в сроки,  
установленные Положением о присуждении ученых степеней.

Соискатель Комиссаров Александр Владимирович 1965 года рождения,  
работает заведующим отделом в Федеральном казенном учреждении

здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Диссертацию на соискание ученой степени кандидата технических наук на специальную тему защитил в 1999 году в диссертационном совете, созданном на базе войсковой части 44026, диплом № КТ 017957 от 24 марта 2000 г.

Диссертация выполнена на базе лаборатории холерных вакцин отдела профилактических препаратов и отдела экспериментальных фармацевтических форм Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Саратов).

Научный консультант – доктор биологических наук, доцент Никифоров Алексей Константинович, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Саратов), заместитель директора по экспериментальной и производственной работе.

Официальные оппоненты: Борисевич Сергей Владимирович – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, начальник института (г. Сергиев Посад Московской области); Соловьева Ирина Владленовна – доктор биологических наук, доцент, Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория микробиома человека и средств его коррекции, заведующая лабораторией (г. Нижний Новгород); Похиленко Виктор Данилович – доктор

технических наук, старший научный сотрудник, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел биологических технологий, ведущий научный сотрудник (п. Оболенск Серпуховского района Московской области) дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация - Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (г. Ставрополь) – в своем положительном отзыве, подписанном Тюменцевой И.С., доктором медицинских наук, профессором, и.о. главного научного сотрудника научно-производственной лаборатории для диагностики особо опасных и других инфекций, указала, что диссертация и автореферат по своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842.

Соискатель имеет 65 опубликованных работ по теме диссертации, в том числе 20 статей в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международные базы цитирования Web of Science или Scopus, а также 4 патента на изобретение и 2 свидетельства о государственной регистрации программ для ЭВМ, что свидетельствует о несомненной научно-практической значимости работы.

Результаты апробированы на ежегодных научно-практических конференциях РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, 2009-2015), на научных конференциях различного уровня: «Биология – наука XXI века» (Пущино, 2010, 2011, 2012), «Вавиловские чтения-2010» (Саратов, 2010), «Развитие

научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями» (Санкт-Петербург, 2010), «Инновационные технологии в противоэпидемической защите населения» (Нижний Новгород, 2011, 2014), «Современные технологии обеспечения биологической безопасности» (Оболensk, 2011), «Математическое и компьютерное моделирование в биологии и химии. Перспективы развития» (Казань, 2012); «Современные технологии в совершенствовании мер предупреждения и ответных действий на чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения» (Саратов, 2012), «Биотехнология. Взгляд в будущее» (Казань, 2013, 2014); «Биотехнология: реальность и перспективы» (Саратов, 2013, 2014), «Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины» (Ставрополь, 2014), а также на совещаниях специалистов Роспотребнадзора «Холера и патогенные для человека вибрионы» (Ростов-на-Дону, 2010, 2011, 2013, 2014), международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2011).

Наиболее значимые работы по теме диссертации и опубликованные в течение пяти лет перед представлением диссертационной работы:

1. Разработка экспериментальной технологии концентрирования протективных антигенов штамма *Vibrio cholera* 569В Инаба методом тангенциальной ультрафильтрации / А.В. Комиссаров, С.А. Еремин, Ю.А. Алешина, А.К. Никифоров, Ю.Г. Васин, О.Д. Клокова, Н.И. Белякова, Ю.А. оценка использования метода ультрафильтрации по принципу «кросс-флоу» для концентрирования О-антигена в производстве холерной бивалентной химической вакцины / А.В. Комиссаров, С.А. Еремин, Ю.А. Алешина, Ю.Г. Васин, О.Д. Клокова, Н.И. Белякова // Проблемы особо опасных инф. – 2011. – Вып. 2 (108). – С.83-86.

3. Исследование процесса сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины / А.В. Комиссаров, Н.Н. Кочкалова, Н.В. Синицына, С.А. Бадарин, Н.И. Костылева, О.А. Волох, О.Д.

Клокова, А.К. Никифоров // Проблемы особо опасных инф. – 2016. – Вып.1. – С.90-93.

4. Новые подходы в технологии получения таблетки вакцины холерной бивалентной химической / А.В. Комиссаров, С.А. Еремин, С.Н. Задохин, И.В. Шульгина, О.А. Лобовикова, Л.Ф. Ливанова, А.В. Гаева, А.К. Никифоров // Биофармацевтический журнал. – 2015. – Т. 7(1). – С.30-39.

5. Технология получения препаратов О-антигена невирулентных штаммов *Vibrio cholera* / А.В. Комиссаров, О.А. Волох, О.В. Громова, Ю.А. Алешина, А.В. Гаева, Л.Ф. Ливанова, А.К. Никифоров // Биофармацевтический журнал. – 2015. – Т. 7(6). – С.3-15.

На диссертацию и автореферат поступило 10 положительных отзывов, из них 7 без замечаний, от: д-ра биол. наук, проф. М.Ю. Волкова, профессора кафедры иммунологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»; канд. биол. наук И.А. Ивановой, заведующей лаборатории иммунологии особо опасных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора; д-ра мед. наук, проф. И.В. Дармова, заведующего кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет»; д-ра биол. наук Д.В. Викторова, заместителя директора по научно-экспериментальной работе ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора; д-ра биол. наук В.Ю. Давыдкина, руководителя отдела медицинской биотехнологии ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского»; д-ра мед. наук, проф. Н.П. Храповой, заведующей отделом диагностики инфекционных болезней и лабораторией иммунодиагностики ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора; д-ра биол. наук, проф. Н.К. Кличханова, профессора кафедры биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный университет».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тематикой диссертационной работы, необходимостью привлечения ведущих специалистов и авторитетных научных организаций в области обеспечения эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями, конструирования вакцин против особо опасных инфекционных заболеваний, разработки вакцин нового поколения, создания современных биотехнологий производства вакцинных препаратов и оценки эффективности препаратов для иммунопрофилактики инфекционных заболеваний.

Положительные отзывы о работе от ведущей организации и официальных оппонентов имеются в материалах Аттестационного дела № 13/6-360 Д 14.10.2016.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**Актуальность темы диссертационного исследования связана с усовершенствованием процесса – промышленного производства холерной химической вакцины.**

Первоначально вакцину от холеры разработал русский ученый бактериолог Мордехай-Зеев (Владимир Хавкин) ещё в конце XIX века. В настоящий период времени при оценке эпидемиологической обстановки по холере в мире установлена тенденция снижения заболеваемости в 2015 г. при среднем ежегодном темпе 10,2 % (относительно 2006 г.). Тем не менее, имевшие место в 2015 г. межгосударственные (Африка, Азия), межконтинентальные завозы холеры из региона Карибского бассейна (Кубы) и Азии в Америку (Канаду) и Европу (Великобританию, Италию, Бельгию и Германию) остаются основными эпидемиологическими рисками в распространении инфекции на глобальном уровне. В 2015 г. выявлена 21 эндемичная по холере административная территория в восьми странах Африки, Америки, в регионе Карибского бассейна и в Азии. Эпидемиологические осложнения обусловлены в основном V. cholerae O1

биовара El Tor, продуцирующими холерный токсин классического типа, а также *V. cholerae* O1 биовара Classical и *V. cholerae* O139 серогруппы. Эпидемические проявления холеры в России характеризовались завозами инфекции российскими гражданами, возвратившимися из-за рубежа; выделением из поверхностных водоемов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор  $ctxA^- tcpA^-$ ,  $ctxA^- tcpA^+$  и *V. cholerae* O139  $ctxA^-$  и  $tcpA^-$ , а также единичных *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор  $ctxA^+ tcpA^+$ . Прогноз по холере на глобальном уровне и в России на 2016-2017 г.г. остается неблагоприятным. В связи с этим разработка промышленного производства холерной химической вакцины необходима и актуальность работы не вызывает сомнений.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертантом изучены и проанализированы известные способы получения вакцинных препаратов против холеры, особое внимание уделено этапам технологического процесса. На основании теоретических расчетов и экспериментальных данных разработан комплекс современных биотехнологических и технических решений для технологической линии по производству холерной химической вакцины:

- разработаны параметры культивирования;
- разработаны и внедрены в производство инновационные технологии концентрирования, выделения и очистки антигенных компонентов холерной вакцины методом ультрафильтрации в тангенциальном потоке;
- усовершенствована и внедрена в производство технология стерилизации холерогена-анатоксина фильтрованием, что позволило уменьшить потери продукта в 10 раз при сокращении времени выполнения технологических процедур в 3,5-4,0 раза;

Практическая значимость выполненной работы связана с разработкой промышленного регламента ПР № 01898109-39-12 «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой». По разработанным техническим и технологическим решениям

выпущено 3 производственные серии вакцины холерной бивалентной химической, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, прошедшие независимую процедуру обязательной сертификации, что подтверждает обоснованность научных положений и рекомендаций на практике.

Кроме этого практическая ценность работы и ее принципиальный вклад в решение крупной научно-практической проблемы подтверждается разработкой усовершенствованной фармакопейной статьи предприятия Р N001465/01-220708 «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой», созданием методических рекомендаций: «Концентрирование протективных антигенов холерного вибриона методом тангенциальной фильтрации», «Аппаратное культивирование атоксигенных штаммов холерного вибриона - продуцентов О-антигенов», «Способ масштабированного получения холерного токсина и рекомбинантной В-субъединицы холерного токсина», «Масштабируемая технология стерилизующей фильтрации антигенных компонентов и готового препарата прототипной химической вакцины», «Фракционирование холерогена-анатоксина холерного вибриона методом тангенциальной ультрафильтрации», «Лиофилизация протективных антигенов холерных вибрионов», одобренных Ученым Советом РосНИПЧИ «Микроб».

Таким образом, полученные результаты не вызывают сомнений, представляются актуальными, научно-обоснованными и практически значимыми. Выводы обоснованы и являются логическим завершением диссертационной работы. Содержание диссертации и анализ публикаций автора позволяют констатировать, что личный вклад соискателя в диссертационную работу адекватно и полностью описан в автореферате и диссертационной работе.

### **Структура и объем работы.**

Диссертационная работа изложена на 328 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, материалы и методы,



результаты и их обсуждение, заключение с выводами, список сокращений и условных обозначений, список литературы и список иллюстративного материала. Работа иллюстрирована 85 таблицами и 62 рисунками. Список литературы содержит 459 источника.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной цели, а именно разработки комплекса современных биотехнологических решений производства холерной химической таблетированной вакцины, обладает внутренним единством, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, правильной методологической платформы, концептуальности и взаимосвязи выводов с поставленными задачами.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что диссертация Комиссарова Александра Владимировича на тему: «Разработка и совершенствование биотехнологических этапов промышленного производства холерной химической вакцины» является законченной научно-квалификационной работой, отвечающей требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание степени доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии). Работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к докторским диссертациям в части решения крупной народнохозяйственной проблемы – разработки комплекса современных биотехнологических решений производства холерной химической таблетированной вакцины, способствующей повышению биологической безопасности Российской Федерации.

**Результаты тайного голосования о ходатайстве перед Минобрнауки РФ о присуждении ученой степени доктора биологических наук Комиссарову А.В.**

На заседании 17.03.2017г. диссертационный совет принял решение

присудить Комиссарову Александру Владимировичу ученую степень доктора биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 21 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), биологические науки, участвовавших в заседании, из 28 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени 19, против присуждения учёной степени нет, недействительных бюллетеней 1.

Председатель  
диссертационного совета

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
17.03.2017 г.



Агафонов А.П.

Зубавичене Н.М.