

АННОТАЦИЯ
диссертационной работы
Орынбасар Мадияна Болатжанқызы
на тему «Субъединичная вакцина против COVID-19 для домашних
кошек: получение и изучение иммунобиологических свойств»
представленной на соискание степени доктора философии (PhD)
образовательной программе 8D09101 – «Ветеринарная медицина»

Актуальность темы исследования. В условиях пандемии COVID-19 трансмиссия вируса SARS-CoV-2 от человека к животному, от животного к животному и обратная передача находится в центре внимания научного сообщества. Особое эпидемиологическое значение имеют домашние кошки, поскольку они находятся в тесном контакте с человеком и проявляют высокую восприимчивость к вирусной инфекции. Вирус SARS-CoV-2 впервые был идентифицирован в конце 2019 года и в короткие сроки приобрёл статус глобальной пандемии. Первоначально предполагалось, что вирус циркулирует исключительно среди людей, однако последующие исследования доказали его зоонозную природу и подтвердили возможность передачи от человека животным. Среди домашних животных кошки являются одними из наиболее восприимчивых к SARS-CoV-2. Они не только заражаются вирусом, но и способны передавать его другим кошкам. Инфекция у кошек в большинстве случаев протекает бессимптомно или в лёгкой форме; в редких случаях наблюдаются респираторные нарушения, снижение аппетита и слабость. Однако бессимптомное носительство представляет собой особую эпидемиологическую опасность, поскольку способствует скрытому распространению инфекции. Согласно международным данным, репродуктивное число (R_0) у кошек превышает 3, а способность длительно выделять вирус может превращать их в естественный резервуар возбудителя. На территориях Азии, Европы и Америки официально зарегистрированы случаи естественного заражения SARS-CoV-2 представителей семейства кошачьих. В этой связи в рамках концепции «Единое здоровье» (One Health) вакцинация домашних кошек рассматривается как неотъемлемая часть комплексных мер противодействия пандемии. Значимость данного подхода подтверждается крупными эпидемиологическими исследованиями международного уровня. Так, в Чили в 2020–2024 годах при анализе сыворотки крови 1377 кошек было установлено, что иммунный ответ у них сохраняется до 15 месяцев. Исследование, проведённое в китайском городе Ухань, убедительно доказало возможность передачи SARS-CoV-2 от человека домашним кошкам. В ходе исследования были протестированы сыворотки крови 102 кошек. В результате у 15 животных (14,7%) были обнаружены антитела к SARS-CoV-2, причём у 11 из них подтверждено наличие вируснейтрализующих антител. Данные показатели свидетельствуют о том, что кошки действительно контактировали с вирусом, а их иммунная система сформировала соответствующий ответ.

Цель диссертационного исследования. Разработка и исследование иммунобиологических свойств субъединичной вакцины против COVID-19 для домашних кошек, характеризующейся безопасностью, иммуногенностью и эффективностью.

Задачи исследования:

1. Разработка дизайна вакцины и лабораторный контроль качества пилотной серии;
2. Исследование иммуногенности и протективной эффективности вакцины на кошках для выбора оптимальной формуляции;
3. Оценка напряжённости и длительности поствакцинального иммунитета у кошек.

Методы исследования. Экспериментальные исследования проводились на базе лабораторий BSL-3 и ABSL-3 Национального научного центра особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева и в Международном центре вакцинологии при КазНАУ. Имеется разрешение Институционального комитета по содержанию и использованию лабораторных животных на проведение исследований по предложенному проекту (протокол № 4 от 22.09.2020 г.). Кроме того, научно-исследовательские работы выполнялись

В работе применён комплекс методов: уровень анти-Spike IgG определяли методом ИФА (иммуноферментного анализа). Среди всех методов анализа особое место занимает иммунологический анализ, основанный на использовании ферментов в качестве метки для выявления антигена или антитела. Возможность применения ферментов в качестве метки в иммунологическом анализе обусловлена высокой каталитической активностью ферментов, которая с помощью соответствующей субстратной системы позволяет определять концентрацию фермента в растворе на уровне 10–15 М.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Обоснование риска распространения SARS-CoV-2 среди домашних кошек и формирования вирусного резервуара, что подтверждает необходимость вакцинации кошек как неотъемлемого компонента стратегии «Единое здоровье» в условиях пандемии COVID-19;
2. Разработка дизайна субъединичной вакцины против COVID-19 для домашних кошек и лабораторный контроль качества пилотной серии, обеспечивающие безопасность, иммуногенность и протективную эффективность препарата;
3. Результаты сравнительного исследования иммуногенной и протективной эффективности различных формуляций вакцины на кошках, проведённого впервые для субъединичной вакцины, предназначенной для домашних кошек.

Описание основных результатов исследования. В ходе проведённой исследовательской работы были комплексно изучены иммунобиологические свойства субъединичной вакцины против COVID-19 для домашних кошек и получены следующие основные результаты:

1. Дизайн вакцины и контроль качества. Разработана конструкция субъединичной вакцины на основе белка S (спайкового белка) вируса SARS-CoV-2. Изготовлена пилотная серия вакцины, проведён лабораторный контроль её качественных показателей (стерильность, безопасность, антигенная активность, физико-химические свойства).

2. Иммуногенная активность вакцины. Различные формуляции вакцины (по типу и концентрации адъювантов) были введены кошкам, проведены сравнительные иммуногенные исследования. По результатам установлено: в сыворотке крови вакцинированных кошек зафиксированы высокие титры специфических антител к SARS-CoV-2; уровень антител, определённый методом ИФА, был статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); титры вируснейтрализующих антител продемонстрировали высокую способность нейтрализовать референтный штамм вируса; определена оптимальная формуляция вакцины, которая наряду с высокой иммуногенной активностью полностью соответствует требованиям безопасности.

3. Протективная эффективность. Вакцинированные кошки были экспериментально заражены вирулентным штаммом SARS-CoV-2. Получены следующие результаты: продолжительность и интенсивность вирусывыделения у кошек вакцинированной группы были значительно ниже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$); у вакцинированных животных клинические признаки заболевания (респираторные нарушения, слабость, снижение аппетита) отсутствовали либо проявлялись в крайне лёгкой форме; в контрольной группе кошек зафиксировано высокое вирусывыделение и выраженные клинические проявления заболевания.

4. Продолжительность поствакцинального иммунитета. Проведена оценка напряжённости и длительности иммунитета у вакцинированных кошек. Согласно полученным данным, защитный уровень антител сохранялся в течение 6 месяцев после вакцинации; высокие титры вируснейтрализующих антител свидетельствовали о стабильности иммунного ответа.

Обоснование новизны и важности полученных результатов.

Впервые разработана субъединичная вакцина против COVID-19 для домашних кошек. Создана технология получения субъединичной вакцины против SARS-CoV-2, предназначенной для домашних кошек. Впервые получены данные об иммуногенности и протективной эффективности различных формуляций вакцины на кошках. Проведена сравнительная оценка иммуногенности и протективной эффективности различных адъювантных формуляций субъединичной вакцины у домашних кошек. В результате исследования определён оптимальный тип адъюванта для кошек и охарактеризованы механизмы усиления иммунного ответа.

Получен патент на изобретение № 35485, 04.02.2022. «Способ получения субъединичной адъювантной вакцины для специфической профилактики SARS-CoV-2-инфекции у плотоядных и других восприимчивых животных». РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» Министерства юстиции Республики Казахстан.

Соответствие направлениям развития науки или государственным программам. Диссертационная работа выполнена в рамках научного проекта «Новая платформа интраназальной вакцины против SARS-CoV-2 на основе наночастиц: разработка и испытание на лабораторных моделях животных». "Профинансировано Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP09259609)."

Связь между целью проекта и содержанием диссертации заключается в следующем: в рамках проекта разрабатывалась платформа интраназальной вакцины на основе наночастиц, тогда как в диссертации изучались иммунобиологические свойства субъединичной вакцины – таким образом, оба направления взаимодополняют друг друга, что позволило провести комплексное исследование вакцинного иммунитета. Исследования в рамках проекта проводились на базе лабораторий BSL-3 и ABSL-3 Национального научного центра особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева МРК, с соблюдением требований высокого уровня биологической безопасности. Результаты проекта послужили основой для оценки протективной эффективности вакцины в диссертационной работе.

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации. Докторант принимал непосредственное участие на всех этапах диссертационного исследования, включая формирование научной концепции, планирование и проведение лабораторных экспериментов, сбор и анализ данных, статистическую обработку результатов, интерпретацию полученных данных, а также подготовку и оформление научных публикаций.

Во всех работах, опубликованных по теме диссертации, вклад докторанта является основополагающим.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

- 1 статья в международном журнале *Frontiers in Veterinary Science* (Q1), индексируемом в базах данных Scopus и Web of Science;
- получен патент на изобретение № 35485 «Способ получения субъединичной адъювантной вакцины для специфической профилактики SARS-CoV-2-инфекции у плотоядных и других восприимчивых животных».

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из 109 страницы и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, заключение, список использованной литературы и 5 приложений. В работе представлены 14 таблиц и 10 рисунков. Список использованной литературы содержит 114 наименований.