

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора фармацевтических наук, профессора,
заведующего кафедрой фармации

ГБОУ ВПО Уральский государственный медицинский университет
Минздрава России

ПЕТРОВА АЛЕКСАНДРА ЮРЬЕВИЧА

на диссертационную работу **Калашниковой Екатерины Александровны**
на тему: «**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КОМБИНИРОВАННЫХ ВАКЦИН ДЛЯ
ПРОФИЛАКТИКИ ДИФТЕРИИ, СТОЛБЮНЯКА И КОКЛЮША НА
ОСНОВЕ ЭКСПРЕССНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА**», представленную на
соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук
по специальности 14.04.01- технология получения лекарств

Актуальность темы выполненной работы

Предотвращение распространения инфекций с помощью иммунизации, без сомнения, является одним из величайших достижений человечества в области медицины. Вакцинопрофилактика рассматривается в настоящее время не только как эффективное, наиболее доступное и экономичное средство в борьбе с инфекциями, но и как средство достижения активного долголетия во всех социальных группах населения развитых и развивающихся стран. Последние десятилетия многие государства осуществляют научные и производственные программы, связанные с защитой от особо опасных бактериальных и вирусных инфекций. Постоянно ведутся исследования по созданию новых, более безопасных и иммуногенных вакцинных препаратов. Совершенствование технологий производства и расширение спектра применяемых вакцин ставит задачу разработки и внедрения новых методов контроля и стандартизации вакцинных препаратов. Контроль качества, эффективности и безопасности

лекарственных средств является одной из приоритетных задач и в системе здравоохранения России в настоящее время. При этом важным моментом становится гармонизация методов контроля отечественных вакцин с требованиями международных нормативных документов. Одними из главных показателей качества вакцинных препаратов являются подлинность и специфическая активность. В настоящее время в нормативных документах на отечественные комбинированные вакцины показатели «Подлинность» и «Специфическая активность» трактуются однозначно и определяются по иммуногенной активности в тестах «in vivo», при этом в Европейской Фармакопее для контроля «Подлинности» вакцинных препаратов рекомендуется использовать тесты «in vitro». Длительные, дорогостоящие тесты на животных также используются и для определения некоторых других показателей, в частности, полноты сорбции или оценки антигенных свойств при получении столбнячных токсинов-анатоксинов. Это определяет необходимость создания новых методов оценки вакцинных препаратов «in vitro». Создание новых вакцин также ставит задачу разработки методов контроля.

Поэтому, по мнению автора диссертационной работы, разработка новых методов контроля качества комбинированных вакцин, соответствующих требованиям международных нормативных документов, является весьма актуальной задачей.

Соответствие диссертации заявленной научной специальности.

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2, 7 паспорта 14.04.01 – технология получения лекарств.

Научная новизна исследований и полученных результатов

Автором диссертационного исследования впервые показана возможность применения в качестве метода контроля «in vitro»

комбинированных вакцинных препаратов для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша по показателям «Подлинность» и «Полнота сорбции» реакции коагутинации (РКОА). Экспериментально подтверждена возможность использования РКОА и для слежения за целевым продуктом в режиме «онлайн» при производстве столбнячного анатоксина и бесклеточной коклюшной вакцины. С учетом современных тенденций по цветовой идентификации реагентов, обеспечивающей удобство работы потребителя и оптимизацию учета результатов, автором создана оригинальная конструкция тест-системы для определения дифтерийного, столбнячного и коклюшных антигенов в РКОА «ТН-ДСК-КОА» с окрашенными коагутинационными диагностикумами, отвечающая по своим валидационным характеристикам требованиям действующих нормативных документов.

На основании комплекса проведенных экспериментальных исследований автором впервые сконструирована иммуноферментная тест-система для оценки специфической активности субстанции бесклеточной коклюшной вакцины. Разработана методика определения специфической активности субстанции бесклеточной коклюшной вакцины (БКВ) с применением иммуноферментного анализа, аттестован стандартный образец специфической активности субстанции БКВ.

Практическая значимость.

Разработана технология изготовления и утверждена нормативно-техническая документация на производство тест-набора для определения дифтерийного, столбнячного и коклюшных антигенов в РКОА («ТН-ДСК-КОА»). Метод контроля вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша по показателям «Подлинность» и «Полнота сорбции» с применением набора «ТН-ДСК-КОА» в РКОА включен в проекты ФСП «Вакцина против коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В адсорбированная, инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип *b*, конъюгированная синтетическая (Вакцина АКДС-Геп В+Hib)» и «Вакцина против дифтерии, столбняка, гепатита В, коклюша бесклеточная адсорбированная, инфекции, вызываемой

Haemophilus influenzae тип *b*, конъюгированная синтетическая (Вакцина аАКДС-Геп В+Hib)»

Разработана технология изготовления иммуноферментной тест-системы (ИФТС) для определения специфической активности субстанции БКВ «ИФА КАГ». Утверждена нормативно-техническая документация на производство «ИФА КАГ». Метод контроля субстанции БКВ по показателю «Специфическая активность» с использованием разработанной ИФТС включен в проект ФСП «Вакцина коклюшная бесклеточная очищенная, субстанция».

Степень обоснованности и достоверности полученных результатов выводов.

Диссертационная работа Калашниковой Е.А. выполнена на современном научном уровне с использованием современных методов анализа: технологических, физико-химических, биотехнологических.

Положения, выдвинутые в диссертации, научно обоснованы. Выводы согласуются с полученными результатами, логично вытекают из задач исследования. Диссертация оформлена в соответствии с основными требованиями ВАК, написана грамотно, профессиональным языком.

Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции «Вакцинология 2010. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней» (г. Москва, 2010); III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию Курского государственного медицинского университета (г. Курск, 2010); Научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию ПГФА «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов – от разработки до коммерциализации» (г. Пермь, 2011); X съезде ВНПОЭМП «Инфекция и иммунитет» (г. Москва, 2012).

Структура диссертационной работы.

Диссертационная работа изложена на 158 (с приложением на 185) страницах машинописного текста, содержит 16 рисунков и 42 таблицы, включает введение, обзор литературы, главу материалы и методы, три главы собственных исследований, список цитируемой литературы, содержащий 200 библиографических источников, из которых 101 на иностранных языках, заключение, выводы, приложения и акты внедрения, т.е. по своей структуре, внешнему оформлению отвечает формальным требованиям, предъявляемым к диссертационным работам.

Общая характеристика работы

В первой главе автором проведен анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Приведены характеристика и классификация вакцинных препаратов, а также методы контроля, применяемые при производстве отечественных вакцин. Глава написано грамотно и доступным языком, формулируем актуальность поставленной задачи.

Вторая глава традиционно посвящена описанию объектов и методов исследований.

В главах экспериментальной части приводятся результаты собственных исследований. Проведены исследования и предложены схемы иммунизации животных для получения антительных компонентов тест-систем (**глава 3**). В этой же главе обсуждаются результаты конструирования антигенных иммуносорбентов и отрабатываются условия выделения полученных антител методами аффинной хроматографии. Качество получаемых препаратов контролируется гельхроматографией и ВЭЖХ, что позволяет использовать очищенные антитела для формирования тест-систем. В **Главе 4** подробно обсуждаются исследования по разработке тест-набора для определения дифтерийного, столбнячного и коклюшных антигенов в реакции коаггутинации. Подробно освещена технология получения стафилококкового бактериально-клеточного реагента (БКР) и его

окрашивания. Представлены исследования по сенсibiliзироваииу БКР антительными фрагментами для формирования диагностических систем. Показана возможность создания такой тест-системы, разработана технология производства тест-набора, проведена оценка сроков годности. В этой же главе подробно исследована применимость разработанного теста для контроля производства вакцин на всех этапах, показано, что использование разработанного теста делает контроль по-настоящему экспрессным. Проверка показала, что тест-система специфичная, прошла проверку на пригодность в ФГУ НЦЭСМП и включена в проект ФСП поликомпанентной вакцины по показателям «Подлинность» и «Полнота сорбции». Глава 5 включает исследования, посвященные созданию иммуноферментной тест-системы для оценки специфической активности субстанции бесклеточной коклюшной вакцины. Представлены результаты разработки технологии получения апмплифицированных конъюгатов на основе коклюшных аффинноочищенных антител кролика, определения оптимальных условий постановки иммуноферментной реакции, исследования вариантов возможных реагентов и параметров их применения. С целью стандартизации учета результатов разработан стандартный образец, в котором определена специфическая активность, выражаемая в иммуноферментных единицах. Разработана технология производства иммуноферментной тест-системы, проведена валидация. Показана возможность использования разработанной тест-системы для оценки специфической активности производственных серий субстанции бесклеточной коклюшной вакцины.

Выводы логично вытекают из содержания работы и соответствуют задачам исследования.

При чтении диссертационной работы возникли некоторые замечания:

1. В обзоре литературы (стр.19) автор правомерно ставит вопрос о необходимости не только финишного контроля качества препарата, но и важность в соответствии с современными требованиями GMP, введения простого в осуществлении постадийного контроля производства вакцинных

препаратов. Однако при этом автор не уделяет совсем внимания такому важному для вакцин вопросу как соблюдение требований GDP, что также во многом определяет качество применяемой вакцины.

2. Обзор вполне грамотно структурирован, но почему-то подразделы не пронумерованы и не отражены в оглавлении.

3. В главе 2 желательно указывать НД на используемые препараты - на гель гидроксида алюминия есть, а на МИБП - нет.

4. При разработке технологических схем для регламента (стр. 77-80) следует руководствоваться ОСТ 64-02-003-2002. Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства. Содержание. Порядок разработки, согласования и утверждения. Операции внутри стадий обозначают ТП2.1, а не ТО2.1.

При рассмотрении диссертации возникли следующие вопросы:

1. Насколько оправдано введение в техпроцесс производства тест-системы процесса иммунизации кроликов?

2. При сравнении чувствительности теста *iv vitro* хотелось бы иметь данные сравнения с чувствительностью теста *in vivo*.

3. Возможно ли использование разработанной иммуноферментной тест-системы не только для оценки готового продукта, но и для контроля коклюшного антигена на технологических стадиях его получения?

Отмеченные недостатки не снижают качества исследований и не снижают положительной оценки диссертационной работы.

Диссертационная работа Калашниковой Екатерины Александровны «Совершенствование системы обеспечения контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша на основе экспрессных методов анализа» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком теоретическом и экспериментальном уровне, содержащей решение важной задачи - разработки технологии получения тест-систем и методов контроля с их использованием, внедрение которых в производство препаратов для

профилактики дифтерии, столбняка и коклюша позволит гармонизировать систему контроля качества вакцин в соответствии с международными требованиями.

Диссертация по актуальности избранной темы, научной новизне, объему проведенных исследований, практической значимости, обоснованности и достоверности выводов соответствует требованиям п. 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ N 842 от 24.09.2013 г. (с изм. от 21.04.2014 г.), предъявленным к кандидатским диссертациям, а ее автор, Калашникова Екатерина Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой
фармации ГБОУ ВПО УГМУ
Минздрава России,
доктор фармацевтических
наук, профессор,



Петров Александр Юрьевич

подпись

Подпись доктора фармацевтических наук, профессора Петрова Александра Юрьевича заверяю
Начальник УК ГБОУ ВПО УГМУ



Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ
(ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России)
620028, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3
Тел: 8 (343) 214-85-20, E-mail: uniitmp@yandex.ru