

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Министерства Здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СПХФА Минздрава России) 197376, Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А Тел.: (812) 234-57-29; факс: (812) 234-60-44 E-mail: info @pharminnotech.com ОКПО 00481985, ОГРН 1037828029007 ИНН 7813045875

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии» Минздрава России

д.ф.н., профессор

И. А. Наркевич



21.11.2014 № 31-1690

На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 20\_\_ г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации о научной и практической значимости диссертационной работы Калашниковой Екатерины Александровны на тему **«Совершенствование системы обеспечения контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша на основе экспрессных методов анализа»**, представленной в диссертационный совет Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

#### Актуальность темы выполненной работы

Высокая эффективность, простота выполнения и возможность широкого охвата населения с целью массовой вакцинации вывели активную иммунопрофилактику в большинстве стран мира в разряд государственных приоритетов. Все это требует проведения исследований по совершенствованию уже существующих и созданию новых, более безопасных и иммуногенных вакцинных препаратов. Одновременно перед исследователями стоит проблема создания и внедрения методов их контроля и стандартизации. В настоящей диссертации автором сделан акцент на совершенствование системы контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша, что свидетельствует об актуальности выполненной работы. При этом автор ставил перед собой задачу исследовать целесообразность применения для

этой цели разработанных ими методов на основе реакции коаггутинации и иммуноферментного анализа.

Диссертационная работа Калашниковой Е.А. выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50007426).

#### **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**

Автор провел детальный анализ существующих методов оценки качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша. Основываясь на необходимости их совершенствования и гармонизации в соответствии с международными требованиями, диссертант предложил новый метод контроля «in vitro» по показателям «Подлинность» и «Полнота сорбции» - а именно, реакцию коаггутинации (РКОА) с использованием разработанной оригинальной тест-системы «ТН-ДСК-КОА» с окрашенными коаггутинационными диагностикумами. Применение РКОА для контроля дифтерийного, столбнячного и коклюшного компонентов позволило значительно упростить процедуру анализа и сократить время его проведения. Также диссертантом обоснована возможность использования РКОА для экспрессного слежения за целевым продуктом в условиях производства субстанций, входящих в состав комбинированных вакцин. Замена традиционного для оценки столбнячного анатоксина теста анитоксинсвязывания на белых мышах на новый с использованием РКОА позволяет оперативно получать результаты в режиме «онлайн», что обеспечивает возможность экстренной коррекции технологического процесса. Особо следует отметить исследования по применению метода РКОА для слежения за антигенной фракцией при производстве разработанной в НПО «Биомед» бесклеточной коклюшной вакцины ввиду отсутствия альтернативного метода контроля.

Автор глубоко проработал литературу, касающуюся существующих в настоящее время комбинированных вакцинных препаратов с цельноклеточным и бесклеточным коклюшным компонентом. Проведенный Калашниковой Е.А. анализ показал отсутствие утвержденных на международном уровне единых методов контроля бесклеточной коклюшной вакцины, позволяющих оценивать и стандартизовать весь процесс производства бесклеточного коклюшного компонента вплоть до его включения в состав комбинированного вакцинного препарата. Особенно следует отметить отсутствие как международного стандарта несорбированного бесклеточного коклюшного компонента (субстанции), так

и коммерчески доступных тест-систем для его оценки. Основываясь на этой информации, диссертантом проведены исследования по разработке метода контроля специфической активности субстанции бесклеточной коклюшной вакцины (БКВ). Результатом этих экспериментальных исследований явилось конструирование иммуноферментной тест-системы на основе кроличьих коклюшных антител и разработка методики количественного определения специфической активности субстанции БКВ с применением иммуноферментного анализа. Впервые аттестован отечественный стандарт субстанции БКВ.

Таким образом, по научной новизне диссертационная работа Калашниковой Е.А. является актуальной и результативной, а так же представляет собой фундамент для дальнейших испытаний вакцинных биопрепаратов.

**Значимость для науки и производства результатов, полученных автором исследования.**

Автором разработана и обоснована технология производства тест-набора для определения дифтерийного, столбнячного и коклюшных антигенов в реакции коаггутинации «ТН-ДСК-КОА». В состав разработанной тест-системы входят дифтерийный, столбнячный и коклюшный диагностикумы, положительные контрольные образцы для всех компонентов и концентрат для приготовления фосфатного буферного раствора. На производство набора реагентов разработана и утверждена нормативно-техническая документация (НТД), включающая инструкцию по применению, технические условия и промышленный регламент. Проведены совместные с ФГБУ "НЦЭСМП" Минздрава РФ испытания набора «ТН-ДСК-КОА». По результатам испытаний сделано заключение, что разработанный тест-набор может быть использован для определения подлинности и полноты сорбции дифтерийного, столбнячного и коклюшного компонентов комбинированных вакцин в РКОА. Набор реагентов «ТН-ДСК-КОА» внедрен в производство комбинированных вакцинных препаратов АКДС-Геп В+Ніb и аАКДС-Геп В+Ніb и включен в спецификацию для их оценки по показателям «Подлинность» и «Полнота сорбции» (проекты ФСП "Вакцина против коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В адсорбированная, инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип b, конъюгированная синтетическая (Вакцина АКДС-Геп В+Ніb)" и "Вакцина против дифтерии, столбняка, гепатита В, коклюша бесклеточная адсорбированная, инфекции, вызываемой *Haemophilus influenzae* тип b, конъюгированная синтетическая (Вакцина аАКДС-Геп В+Ніb)").

Диссертационная работа Калашниковой Е.А. имеет значительную практическую направленность, т.к. в ней автор, кроме разработки методов контроля вакцинных препаратов, предложил технологическую схему производства тест-набора для оценки специфической активности субстанции бесклеточной коклюшной вакцины «ИФА КАГ», разработал нормативно-техническую документацию (инструкция по применению, технические условия, опытно-промышленный регламент). Разработанная

иммуноферментная тест-система внедрена в производство БКВ и включена в спецификацию для оценки препаратов по показателю «Специфическая активность» (проект ФСП "Вакцина коклюшная бесклеточная очищенная, субстанция").

**Степень обоснованности и достоверности научных результатов, положений и выводов диссертации.**

Степень обоснованности и достоверности научных результатов, выводов и заключений соискателя подтверждены использованием современных методов исследований с применением компьютерных технологий, физико-химического анализа, а так же протоколами исследований и актом внедрения на существующем производстве.

Структура работы и последовательность проведения экспериментов имеет логичный характер, для каждой поставленной задачи найдено оптимальное и эффективное решение. Диссертационная работа сопровождается информативными таблицами, рисунками и ссылками на источники используемой литературы.

Результаты диссертационного исследования Калашниковой Е.А. обсуждались на международных и региональных конференциях, отражены в 9 публикациях, 3 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Достоверность полученных результатов, обработанных статистическим методом, а так же положений и выводов диссертационной работы не вызывают сомнения. Опубликованные в открытой печати результаты диссертационного исследования и автореферат отражают законченность и научную оригинальность работы. Значение полученных диссертантом данных для реального производства вакцинных биопрепаратов, характеризуют его как самостоятельного, способного нестандартно мыслить специалиста в области фармацевтической науки и практики.

**Предложения, замечания и вопросы, возникшие при оценке работы и обсуждении отзыва**

При знакомстве с текстом диссертации Калашниковой Е.А. отметили научный стиль изложения работы. Каждый раздел диссертации четко соответствовал названию, имел понятные формулировки без потери научной ценности. Логичность изложения сделала работу интересной и легковоспринимаемой при чтении.

Представленная работа не содержит значительных стилистически и орфографических ошибок. При обсуждении работы возникли следующие вопросы и замечания.

1. Есть ли зарегистрированные аналоги разработанных тест-систем на отечественном фармацевтическом рынке?

2. В разделе 5.1 Вы говорите, что целесообразно для получения конъюгата тест-системы биотинилирование антител. При этом в настоящее время достаточно часто используется катионный изофермент пероксидазы хрена. Почему при разработке тест-системы, Вы выбрали именно амплифицирующие системы авидин-биотин, ведь применение

пероксидазных конъюгатов позволяет несколько упростить процедуру анализа?

3. Возможно ли расширить специфичность тест-набора на основе реакции коаггутинации? Хорошо было бы включить в состав набора диагностикум для оценки HBsAg.

#### **Заключение.**

Диссертационная работа Калашниковой Екатерины Александровны «**Совершенствование системы обеспечения контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша на основе экспрессных методов анализа**» является полноценной научно-квалификационной работой, в которой представлены научно-методические подходы и результаты исследования для достижения поставленной цели по разработке экспрессных методов анализа комбинированных вакцин в соответствии с международными требованиями с оценкой возможности их применения в производстве вакцинных препаратов.

Диссертационная работа по своей актуальности, научной новизне, практической значимости, достоверности полученных результатов, уровню апробации и опубликованию основных положений в печати соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а Калашникова Екатерина Александровна заслуживает присуждения искомой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Содержание отзыва обсуждено на заседании кафедры биотехнологии СПХФА Минздрава России (протокол №4 от 12 ноября 2014г.)

Профессор кафедры биотехнологии  
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская  
государственная Химико-фармацевтическая  
академия Минздрава России,  
доктор биологических наук, профессор

197376, Санкт-Петербург,  
ул. проф. Попова, д.14, лит.А  
(812)234-05-63, (812)12-14-58  
[Elena.yakovleva@pharminnotech.com](mailto:Elena.yakovleva@pharminnotech.com)  
Яковлева Елена Павловна



*Elena*  
Яковлева Елена Павловна

Подпись руки

удостоверяю

Начальник ОД

*Яковлева Е.П.*  
*21.11.2014*  
*Лавина И.С.*