

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии
и переливания крови Федерального
медико-биологического агентства»
доктор медицинских наук



И.В.Парамонов

31 марта 2022 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский
научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови
Федерального медико-биологического агентства»

Диссертация на тему «Разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита» выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России) и ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава России (ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России).

В период выполнения работы Кормщикова Елена Сергеевна с 20.07.2010 года работала в должности младшего научного сотрудника лаборатории препаратов крови, с 07.10.2019 является и.о.заведующего и младшим научным сотрудником названной лаборатории.

Кормщикова Е.С. в 2010 году окончила Вятский государственный университет г.Киров по специальности «биотехнология».

Научный руководитель:

доктор медицинских наук директор ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России
Парамонов Игорь Владимирович.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Диссертационная работа Кормицковой Елены Сергеевны является законченным научным трудом, в котором решена важная научно-техническая задача - разработан фармакопейный стандартный образец для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Диссертантом впервые в Российской Федерации разработан способ получения фармакопейного стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита, который обеспечивает внутрисерийную однородность и стабильность аттестованного значения в течение не менее 3 лет (патент № 2735782 Российская Федерация). Разработан фармакопейный стандартный образец содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита и аттестован двумя методами. Аттестуемые характеристики составили не ниже титра антител 1:80 с неопределенностью, не превышающей шаг титрования, в реакции торможения гемагглютинации, не менее 200 ЕД/мл с неопределенностью, не превышающей 21 %, в иммуноферментном анализе. Автором усовершенствована методика определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе реакции торможения гемагглютинации с использованием разработанного фармакопейного стандартного образца, что позволило повысить точность определения титра антител за счет снижения вариабельности результатов и разработана методика оценки специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе иммуноферментного анализа, обеспечивающая унификацию данных, полученных с применением разных наборов реагентов.

В процессе работы для обоснования состава защитной среды исследовали протективное действие глицина и его смеси с l-пролином. Значение рН корректировали до 5,0. Для достижения внутрисерийной однородности стабилизированные растворы подвергали стерильному розливу при постоянном перемешивании и контролировали точность дозирования.

Лиофилизацию проводили по режиму высушивания внутривенного иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита с изменением типа флаконов и объема наполнения. Было получено 4 кандидата в фармакопейный стандартный образец.

Высушивание проведено до требуемой остаточной влажности, не превышающей 1 %. При этом сохранилась аморфная структура лиофилизатов и не изменилась специфическая активность. Показатели растворимости, цветности и прозрачности соответствовали нормам для иммуноглобулинов. Способ получения обеспечил точность наполнения флаконов.

По результатам ускоренных испытаний установлено, что снижение специфической активности для образцов, стабилизированных смесью глицина и l-пролина происходило в 1,5 - 2 раза медленнее, чем для кандидатов с традиционным наполнителем. Исходя из этого выбран состав защитной среды – глицин и l-пролин в количестве по 12,5 г/л. Также показано, что между вариантами с одним составом защитной среды, но разным содержанием белка, различия отсутствовали. Это позволило не нормировать данный показатель при разработке спецификации на фармакопейный стандартный образец.

Получили три экспериментальные серии с выбранным стабилизатором, которые были исследованы согласно общепринятой практике по основным критериям качества иммуноглобулинов человека, а также внутрисерийной однородности. По результатам испытаний установлены требования к остаточной влажности, pH и внутрисерийной однородности. По остальным показателям экспериментальные серии соответствовали нормам качества иммуноглобулиновых препаратов. Минимально допустимое значение специфической активности составило 1:80, исходя из нормативной документации производителей.

Разработанный способ получения фармакопейного стандартного образца позволяет осуществлять серийный выпуск целевого продукта, характеризующегося близостью состава и свойств контролируемым препаратам, стабильностью и внутрисерийной однородностью. Определены

аттестуемые характеристики фармакопейного стандартного образца. Испытания проводили специалисты двух независимых лабораторий: Кировского научно-исследовательского института гематологии и переливания крови и Научного центра экспертизы средств медицинского применения (г.Москва) в регламентированных условиях с применением средств измерения сопоставимого уровня точности.

По итогам валидационных испытаний установлена специфичность и линейность методики. Прецизионность подтверждена коэффициентом вариации, не превышающим 15 %, правильность характеризовалась диапазоном смещения среднего относительно аттестованного значения – от минус 3,6 до 1,6 %.

Экономическое обоснование эффективности использования фармакопейного стандартного образца показало, что его применение является эффективным, поскольку значительно снижает затраты на производство лекарственного препарата, связанные с риском выбраковки серии по показателю качества «специфическая активность».

Разработанный стандарт внесен в реестр фармакопейных стандартных образцов для последующей реализации на территории Российской Федерации производителям иммуноглобулина человека.

Диссертационная работа выполнена на базе лаборатории препаратов крови ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Исследование проводилось в рамках тем НИР: «Совершенствование методов контроля качества препаратов иммуноглобулина человека» (шифр: «011») № гос.регистрации 01201150082, «Совершенствование методов контроля качества крови донорской, ее компонентов и препаратов» (шифр: «Контроль качества-14»), № гос.регистрации 01201451641 (акт внедрения результатов НИР от 10.10.2016 г). Материалы, полученные в ходе исследований, включены в отчеты института о выполнении государственного задания. Раздел, касающийся аттестации фармакопейного стандартного образца, отражен в темах НИР ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: «Научное обоснование и разработка

методологии экспертизы качества, эффективности и безопасности препаратов крови», № госрегистрации 115111740010, «Совершенствование системы разработки и применения стандартных образцов, предназначенных для оценки качества, эффективности и безопасности лекарственных средств», № госрегистрации 115111740007.

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России от 27.05.2020 г., протокол № 6.

Диссертационная работа основана на исследовании 83 серий лекарственного препарата, 3 экспериментальных серий фармакопейного стандартного образца иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита и 4 кандидатов в фармакопейный стандартный образец.

Положения, выводы, рекомендации иллюстрированы таблицами, рисунками, графиками, статистически обоснованы.

Новизна работы

Впервые в Российской Федерации разработан способ получения фармакопейного стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита, который обеспечивает внутрисерийную однородность и стабильность аттестованного значения в течение не менее 3 лет (патент № 2735782 Российская Федерация). Получен названный фармакопейный стандартный образец. Определены его аттестуемые характеристики.

Усовершенствована методика определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе реакции торможения гемагглютинации с использованием разработанного фармакопейного стандартного образца, позволившая повысить точность определения титра антител. Разработана методика оценки специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе иммуноферментного анализа, обеспечивающая унификацию данных, полученных с применением разных наборов реагентов.

Практическая значимость работы

Теоретическая значимость состоит в обосновании технологических приемов получения фармакопейного стандартного образца, подходов к оценке аттестуемых характеристик первичного стандарта, а также унифицированного алгоритма расчета концентрации IgG к вирусу клещевого энцефалита в иммуноферментном анализе.

Практическое значение результатов исследования заключается в применении фармакопейного стандартного образца для повышения точности и унификации определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, а также при аттестации вторичных стандартов и валидации методик контроля качества указанных лекарственных препаратов.

Результатам диссертационной работы доложены на различных форумах: Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых с международным участием «Вопросы трансфузиологии и клинической медицины», Киров, 2012, VII Областной молодежный научно-инновационный конкурс по программе «У.М.Н.И.К.», г.Киров, 2015, Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, посвященная 55-летию Кировского научно-исследовательского института гематологии и переливания крови «Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины», Киров, 2015, I-й Калининградский научный иммунологический форум (XIII конференция иммунологов Урала - 2016), Калининград, 2016.

Основное содержание диссертации отражено в 12 научных публикациях, из них 4 - в рецензируемых научных изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, получен патент на изобретение Российской Федерации.

1. **Савельева, Е.С.** Влияние стабилизаторов на сохранность антител в препаратах лиофилизированного иммуноглобулина / **Е.С. Савельева**, Е.В. Хлыбова, Е.Ю. Савиных, А.В. Дробкова // Вестник гематологии. – 2011. - № 1 (8). – С.102-103.
2. Дробкова, А.В. Валидация методики определения специфической активности препаратов иммуноглобулина / А.В. Дробкова, Е.Н. Калинина, Е.В. Хлыбова, **Е.С. Савельева**, Е.Ю. Савиных // Трансфузиология. – 2011. - № 2 (12). – С.58.
3. **Савельева, Е.С.** Определение антител к вирусу клещевого энцефалита в сыворотках и плазме крови доноров / **Е.С. Савельева**, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Вопросы трансфузиологии и клинической медицины (Епифановские чтения)». – Киров. – 2012. – С.29-30.
4. **Савельева, Е.С.** Оценка содержания антител к вирусу клещевого энцефалита методами реакции торможения гемагглютинации и иммуноферментного анализа / **Е.С. Савельева**, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова // Материалы VII съезда гематологов и трансфузиологов Республики Беларусь «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии». – Минск: РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий. – 2012. – С.145-148.
5. **Савельева, Е.С.** Использование уравнения Аррениуса для изучения стабильности иммуноглобулиновых препаратов / **Е.С. Савельева**, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова // Материалы 81-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные вопросы современной медицины». – Иркутск: ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет». – 2014. – С.357.
6. **Кормщикова, Е.С.** Выбор композиции стандартного образца антител человека к вирусу клещевого энцефалита / **Е.С. Кормщикова**, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова // Материалы Всероссийской научно-практической

конференции с международным участием «Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины». – Киров: ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. – 2015. – С.82-84.

7. **Кормщикова, Е.С.** Оценка возможности применения метода «ускоренного старения» для изучения стабильности концентратов антител человека / **Е.С. Кормщикова, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины». – Киров: ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. – 2015. – С.85-88.

8. **Кормщикова, Е.С.** Разработка математической модели оценки результатов определения антител человека к вирусу клещевого энцефалита / **Е.С. Кормщикова, Е.В. Хлыбова, А.В. Дробкова** // Биофармацевтический журнал. – 2016. - № 3 (8). – С.35-43.

9. Проблема оценки специфической активности препаратов иммуноглобулинов человека против клещевого энцефалита / **Е.С. Кормщикова, Е.В. Росина, И.В. Парамонов, А.В. Рылов, Э.Ю. Кудашева** // Российский иммунологический журнал. – 2016. - № 1-2 (10(19)). – С.475-477.

10. Сравнительный анализ количественного определения содержания антител IgG к вирусу клещевого энцефалита с использованием различных иммуноферментных тест-систем / **Е.С. Кормщикова, И.В. Парамонов, А.В. Рылов, Э.Ю. Кудашева** // Медицинская иммунология. – 2017. - № S (19). – 255-256.

11. Биотехнологические подходы к получению стабильной формы стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита / **Е.С. Кормщикова, Е.В. Росина, К.А. Воробьев, И.В. Парамонов, Э.Ю. Кудашева** // Биотехнология. – 2021. – Т.37. – № 3. С. 42 – 52.

12. **Кормщикова, Е.С.** Анализ специфической активности препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита / **Е.С. Кормщикова, К.А. Воробьев, И.В. Парамонов, Э.Ю. Кудашева** // Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии: сб.

материалов междунар. научн.-практ. конф. / [редкол.: И.В. Парамонов (отв. ред.) и др.] – Киров: ООО «Флат-Принт», 2021. – с. 37 - 39.

Патент на изобретение Российской Федерации:

1. Патент № 2735782 Российская Федерация, МПК C12N 15/00 (2006.01). СПК C12N 15/00 (2020.05). Способ получения стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита: № 2735782: заявл. 03.04.2020: опубл. 09.11.2020 / Кормщикова Е.С., Росина Е.В., Воробьев К.А., Парамонов И. В., Кудашева Э.Ю. – 10 с. Бюл.31.

Все используемые в работе данные получены при непосредственном участии автора.

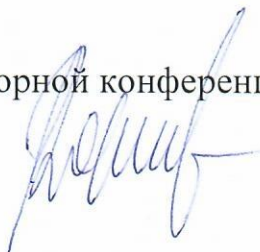
Диссертация «Разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита» Кормщиковой Елены Сергеевны полностью соответствует группе научных специальностей шифр: Биологические науки, научной специальности 1.5.6 Биотехнология. Область проведенных исследований согласуется с п. 3 «создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения» и п. 8 «разработка научно-методических основ для применения стандартных биосистем на молекулярном, клеточном, тканевом и организменных уровнях в научных исследованиях, контроле качества и оценки безопасности использования пищевых, медицинских, ветеринарных и парфюмерно-косметических биопрепаратов» паспорта названной научной специальности. Диссертационная работа Е.С.Кормщиковой рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология (биологические науки).

Заключение принято на научной клинико-лабораторной конференции Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» от 31 марта 2022 года,

протокол № 1. Присутствовало на заседании - 36 человек. Результаты голосования: «за» 36 - чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет.

Председатель научной клинико-лабораторной конференции:

д.б.н., старший научный сотрудник



Воробьев К.А.

Секретарь научной клинико-лабораторной конференции:

к.м.н., доцент



Ковтунова М.Е.