

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Абрамовой Елены Геннадьевны на диссертационную работу Кормщицковой Елены Сергеевны «Разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы исследования.

Клещевой энцефалит является природно-очаговым вирусным заболеванием, способным вызывать у человека тяжелые поражения центральной нервной системы, приводящие к инвалидности и нередко к летальным исходам. Клещевой энцефалит широко распространен в Российской Федерации, ежегодно регистрируется от 2000 до 3000 случаев заболевания с установленным диагнозом, а число обращений по поводу укусов клещей составляет в среднем 340 тыс. случаев в год. В Российской Федерации для экстренной профилактики и этиотропной терапии данного инфекционного заболевания применяют иммунобиологический лекарственный препарат «Иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита», входящий в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения. Введение препарата в ранние сроки после заражения нейтрализует вирус и формирует пассивный иммунитет к инфекции.

Одним из важнейших показателей качества иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита является специфическая активность, которую, согласно нормативной документации, определяют в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Метод не лишен недостатков – он достаточно трудоемкий, длительный, не подходит для тестирования большого количества образцов. Кроме того, применение лабильных биологически активных компонентов, субъективность визуальной оценки титра антител могут являться причинами снижения достоверности результатов РТГА.

В лабораторной диагностике клещевого энцефалита и оценке поствакцинального иммунитета применяют иммуноферментный анализ (ИФА), для выполнения которого в Российской Федерации имеется широкий спектр наборов реагентов отечественного и зарубежного производства, однако они не верифицированы для тестирования препаратов крови и предусматривают разные способы оценки результатов. Отсутствие унифицированной методики ограничивает применение ИФА на биотехнологических производствах для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Соискатель совершенно справедливо отмечает, что для решения задач унификации, повышения достоверности и воспроизводимости результатов оценки специфической активности вышеназванного лекарственного препарата необходим фармакопейный стандартный образец содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита, поскольку только при соотнесении результата анализа с общепризнанным стандартом можно получать сопоставимые данные при применении разных методик исследования в независимых лабораториях.

До настоящего времени исследований по разработке первичных стандартов содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита в нашей стране и за рубежом не проводилось. Отсутствие в Российской Федерации фармакопейного стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита определяет актуальность проведения исследований по разработке и аттестации указанного стандартного образца. Решение данной проблемы, которое представлено в диссертационной работе Кормщиковой Е.С., позволяет соответствовать требованиям Федерального закона № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в части обязательного метрологического обеспечения контрольных исследований по подтверждению качества при вводе препарата в гражданский оборот и в целом направлено на повышение качества и эффективности лекарственных препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Диссертационная работа выполнена в ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства» в рамках четырех НИР.

Цель диссертации четко определена и направлена на разработку фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Задачи, сформулированные для решения поставленной цели, являются понятными, последовательными и обеспечивают решение поставленной цели.

Научная новизна диссертационного исследования состоит в том, что впервые разработан и аттестован двумя методами фармакопейный стандартный образец (ФСО) содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита со следующими характеристиками: титр антител в РТГА – не ниже 1:80 с неопределенностью, не превышающей шаг титрования, в ИФА – не менее 200 ЕД/мл с неопределенностью, не превышающей 21 %; разработан способ получения ФСО для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, который обеспечивает внутрисерийную однородность и стабильность аттестованного значения ФСО в течение 3

лет; усовершенствована методика определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе РТГА с использованием разработанного ФСО, что позволяет повысить точность определения титра антител за счет снижения вариабельности результатов; разработана методика оценки специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе ИФА, обеспечивающая унификацию данных, полученных с применением разных наборов реагентов.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена патентом РФ на изобретение.

Теоретическая значимость диссертационной работы состоит в обосновании технологических подходов к получению ФСО, обеспечивающих стабильность аттестуемых характеристик в процессе хранения, близость состава и свойств исследуемым препаратам иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, внутрисерийную однородность. Предложенная методика аттестации ФСО с применением ИФА может рассматриваться в качестве основы для получения аттестуемой характеристики первичных стандартов. Разработанная соискателем математическая модель расчета концентрации IgG к вирусу клещевого энцефалита позволяет получать результаты, сопоставимые со значениями метода параллельных линий Европейской Фармакопеи и оптимизировать способ обработки данных ИФА.

Практическая значимость проведенных исследований заключается в применении ФСО для повышения точности и унификации результатов определения основного показателя качества лекарственных препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита и обосновании применения ИФА для оценки их специфической активности. Немаловажно, что разработанный фармакопейный стандартный образец может применяться при валидации методик и аттестации вторичных стандартов для проведения рутинных исследований на предприятиях-изготовителях лекарственных препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита. Практическая значимость подтверждается разработкой пакета технической и эксплуатационной документации на научно-техническую продукцию «Фармакопейный стандартный образец содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита ФСО ГФ РФ 3.1.00453» (инструкции по изготовлению, контролю и аттестации ФСО; проектов паспорта и инструкции по применению), что дает возможность осуществлять серийный выпуск стандарта.

Диссертационная работа изложена на 133 страницах текста, отпечатанного с помощью компьютерного принтера, и выстроена по классической схеме, включающей:

введение; обзор литературы (глава 1); главу с описанием материалов и методов (глава 2); 4 главы с описанием результатов исследований; заключение с содержащимися в нем практическими рекомендациями по использованию результатов диссертационного исследования; выводы; список сокращений и условных обозначений; список литературы; 4 приложения. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 11 рисунками. Список литературы содержит 152 источника, из них 53 – зарубежные.

В разделе «**Введение**» автор представил актуальность темы исследования и степень ее разработанности, сформулировал цель и задачи диссертации, представил научную новизну, теоретическую и практическую значимость диссертации, сформулировал, в чем состоит методология исследования, представил применяемые методы исследования, изложил положения, выносимые на защиту. Также представлены данные по степени достоверности и апробации результатов работы, сведения о личном участии автора в получении результатов, публикациям по теме работы, структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы (Глава 1), состоит из 3 подглав. В первой подглаве Кормщиковой Е.С. приведены сведения о клещевом энцефалите, его распространении в мире и Российской Федерации и способах специфической профилактики. Представлена характеристика иммунобиологического лекарственного препарата «Иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита» и показано его значение для экстренной профилактики и терапии клещевого энцефалита в Российской Федерации. Во второй подглаве диссертантом, исходя из цели работы, описаны методы определения содержания антител к вирусу клещевого энцефалита, показаны их преимущества и недостатки. В третьей подглаве рассмотрены направления совершенствования методик определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита.

Обзор литературы занимает примерно 25 % объема диссертации и позволяет получить достаточно полное представление о современном состоянии изучаемого вопроса. Подавляющее большинство источников литературы представлены современными работами, опубликованными после 2000 г.

В главе 2 «**Материалы и методы**» описаны основные материалы, условия и методы проведения экспериментальных исследований. Автором обстоятельно и подробно описаны применяемые статистические методы, необходимые для проведения аттестационных испытаний. Использованные методические приемы соответствуют современному методическому уровню, являются воспроизводимыми и надежными. Объем наблюдений, планирование и проведение экспериментов адекватны поставленным задачам, достаточны для доказательного статистического анализа.

Результаты исследований обобщены в 4 главах. В **главе 3** представлены результаты экспериментального обоснования способа получения иммуноглобулина – кандидата в фармакопейный стандартный образец для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, выбора стабилизатора и режима лиофилизации. Автором обоснованы требования к показателю внутрисерийной однородности, рН, остаточной влажности. В заключительной части исследований в рамках главы 3 изучены свойства образцов экспериментальных серий стандартного образца на соответствие основным критериям качества лекарственного препарата «Иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита», в ходе которого установлено, что показатели качества образцов трех экспериментальных серий соответствовали требованиям нормативных документов. Результаты оценки свойств лиофилизатов антител трех экспериментальных серий явились основой для разработки автором нормативных требований к фармакопейному стандартному образцу содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита.

В **главе 4** описан алгоритм аттестации фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита с использованием методов РТГА и ИФА в двух независимых исследованиях, одно из которых проведено автором, другое – специалистами научного центра экспертизы средств медицинского применения Минздрава России (г. Москва). Автором приведены результаты статистической обработки данных аттестационных испытаний стандартного образца в РТГА, при отсутствии первичного (международного) стандарта предложен алгоритм определения аттестуемой характеристики ФСО в ИФА. В ходе аттестационных испытаний первичного и повторных выпусков стандартного образца методами РТГА и ИФА установлены аттестуемые характеристики фармакопейного стандартного образца трех экспериментальных серий. В долгосрочных испытаниях автором подтверждена стабильность образцов трех экспериментальных серий разработанного стандарта и установлен срок годности, который составил 3 года.

Глава 5 освещает вопросы практического применения разработанного фармакопейного стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита – автором приведены результаты исследований по определению специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита с использованием фармакопейного стандартного образца. К значимым результатам можно отнести оптимизацию методики определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита в РТГА. Для расчета содержания антител введен коэффи-

циент, учитывающий смещение фактического титра антител в стандарте относительно его аттестованного значения. Благодаря использованию фармакопейного стандарта достигнута статистическая эквивалентность результатов, полученных разными специалистами, и повышена точность определения специфической активности. Не менее значимой является разработка и валидация методики определения специфической активности вышеназванного лекарственного препарата на основе ИФА с помощью аттестованного ФСО. В главе приведены результаты оценки специфичности, линейности, правильности, повторяемости, прецизионности методики по результатам определения IgG к вирусу клещевого энцефалита с использованием нескольких ИФА-тест-систем. В главе отражены данные по определению специфической активности 68 серий ИЛП «Иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита» с использованием разработанного стандарта. В результате экономического обоснования автором показана эффективность применения ФСО на предприятиях-изготовителях вышеназванного ИЛП за счет снижения риска выбраковки серии по показателю качества «специфическая активность».

Глава 6 посвящена исследованиям по разработке нормативно-технологической документации на фармакопейный стандартный образец содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита ФСО ГФ РФ 3.1.00453, необходимой для осуществления его серийного выпуска. Кроме этого, автором приведены технологическая схема получения, контроля и аттестации ФСО, аппаратная схема технологического процесса и контрольных операций, а также спецификация основного оборудования и норм оснащения при производстве указанного стандарта.

В **Заключении** диссертации последовательно и аргументированно сформулированы итоги исследований. **Выводы** соответствуют поставленным задачам и отражают сущность работы.

В **приложениях** представлены: инструкция по изготовлению, контролю и аттестации фармакопейного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита; проекты паспорта и инструкции на научно-техническую продукцию «Фармакопейный стандартный образец содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита ФСО ГФ РФ 3.1.00453»; патент РФ, подтверждающий приоритетность научных исследований Кормщиковой Е.С.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность обеспечивается значительным объемом полученных экспериментальных данных, их соответствием теоретическим положениям, статистической обработкой результатов экспериментов.

Диссертация написана четким и ясным языком, с использованием принятой терминологии, оформление диссертации существенных замечаний не вызывает.

Содержание диссертации в достаточной степени отражено в публикациях автора (в том числе в 3 статьях в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология), патенте РФ на изобретение. Материал диссертации доложен на научных конференциях и известен научной общественности, а ее основные положения обстоятельно изложены в автореферате.

Содержание диссертации соответствует специальности, по которой она представлена к защите.

Автореферат диссертации, изложенный на 24 страницах, соответствует содержанию и основным итогам диссертации.

По содержанию диссертации имеются **замечания и вопросы**:

1. Автору необходимо представить более четкое обоснование выбора типа первичной упаковки и объема дозирования фармакопейного стандартного образца.

2. В диссертации имеется заключение по главе 1, но нет заключений по итогам исследований, изложенным в главах 3, 4, 5, 6, они были бы уместны.

3. В разделе «Выводы» уместно было бы представить информацию об утверждении (признании) разработанного фармакопейного стандартного образца уполномоченным контрольным органом с указанием полного названия ФСО и присвоенного номера.

4. В тексте диссертации допущены отдельные неточности и опечатки. Так, на странице 11 дается некорректная ссылка на литературный источник [141], на страницах 13 и 50 указаны несуществующие источники [177] и [211], на странице 16 при упоминании исследований Г.М. Воронковой отсутствует ссылка на ее работы, на странице 17 некорректна ссылка [144], на странице 19 в слове «гемагглютинины» пропущена буква «г», на странице 23 некорректна ссылка [138], на странице 28 некорректна ссылка [149], на странице 31 некорректна ссылка [150], на странице 35 некорректна ссылка [96] и допущена ошибка в слове «иммунохемилюминесцентного»; на странице 46 указаны значения содержания белка в препарате, не совпадающие с таковыми в таблице 2; на странице 52 допущена ошибка в слове «однородности»; на странице 89 некорректно выражение «ИФА проведено»; в списке литературы у источника под номером 8 не указан номер журнала; у источника под номером 13 приведено неверное название ГОСТ 8.532-2002 и т.д.

Необходимо отметить, что сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Представленная к оппонированию диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи по разработке фармакопейного стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита для унификации и повышения точности результатов при подтверждении качества лекарственных препаратов иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, имеющей существенное значение для обеспечения фармацевтической независимости Российской Федерации.

Диссертационная работа «Разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита» отвечает критериям п. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Кормщицова Елена Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 Биотехнология.

Главный научный сотрудник лаборатории
профилактических иммуноглобулинов
Федерального казенного учреждения науки
«Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека (ФКУН
Российский противочумный институт «Микроб»
Роспотребнадзора), доктор биологических наук

Абрамова Елена
Геннадьевна

Адрес организации
410005, г. Саратов, ул. Университетская, д.46
Тел.: (8452) 26-21-31
e-mail: rurapi@microbe.ru

Подпись Абрамовой Е.Г. заверяю

Начальник отдела кадров
ФКУН Российский противочумный институт
«Микроб» Роспотребнадзора
«12» августа 2022 г.



О.В. Шумигай



Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Федеральное казенное учреждение науки

«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ»

(ФКУН Российский противочумный институт "Микроб" Роспотребнадзора)

ул. Университетская, д. 46, г. Саратов, 410005. Тел.: (845-2) 26-21-31. Факс: (845-2) 51-52-12.

E-mail: rusrapl@microbe.ru Сайт: microbe.rospotrebnadzor.ru

ОКПО 01898109, ОГРН 1026402676112, ИНН / КПП 6452024470 / 645201001

01 ИЮЛ 2022

№ 64-50-100/33-1985-2022

На _____ от _____ г.

Руководителям организаций

УВЕДОМЛЕНИЕ об изменении наименования

Настоящим письмом уведомляем Вас о том, что в соответствии с приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 23.06.2022 года № 353 Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека переименовано в **Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Сокращенное наименование: ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.**

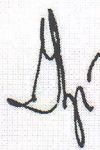
Федеральное казенное учреждение науки «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека является правопреемником Федерального казенного учреждения здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Соответствующие изменения были зарегистрированы Межрайонной инспекцией Федеральной налоговой службы №22 по Саратовской области. Свидетельство о записи, подтверждающем факт внесения записи в ЕГРН № 2226400320200 от 30.06.2022г.

Банковские реквизиты учреждения остались без изменений.

Начиная с 01.07.2022 года при оформлении всех платежных, финансовых и иных документов, связанных с исполнением государственных контрактов, договоров просим Вас указывать новое наименование.

Директор института



В.В. Кутырев