

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Игнатъева Георгия Михайловича на диссертацию **Кормщицковой Елены Сергеевны** «РАЗРАБОТКА ФАРМАКОПЕЙНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Актуальность темы

Одними из наиболее востребованных лекарственных средств являются препараты из плазмы крови человека (альбумин, иммуноглобулины, факторы свертывания крови), которые применяются при первичных и вторичных иммунодефицитах, аутоиммунных и инфекционных заболеваниях, патологии системы свертывания крови. Эти лекарственные средства входят в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов для медицинского применения, утвержденный распоряжением Правительства Российской Федерации от 12.10.2019 № 2406-р.. Планом реализации «Стратегии лекарственного обеспечения Российской Федерации на период до 2025 года», утвержденным приказом Минздрава России от 13.02.2013 № 66, предусматривается совершенствование государственной контрольно-разрешительной системы в сфере обращения лекарственных средств, систем стандартизации контроля качества и аттестации государственных стандартных образцов, а также гармонизация требований к проведению доклинических и клинических исследований.

Поручения Президента Российской Федерации от 31.08.2014 № Пр-2070 и от 07.02.2016 № Пр-226 о создании современных производственных мощностей по выпуску отечественных препаратов крови на территории нашей страны для гарантии национальной безопасности возлагают ответственность по обеспечению качества, эффективности и безопасности указанной группы

препаратов на структуры, осуществляющие стандартизацию и контроль лекарственных средств.

Иммуноглобулин человека против клещевого энцефалита предназначен для экстренной профилактики и лечения заболевания, которое вызывает вирус клещевого энцефалита. Опыт производства такого препарата имеется в Европе (Австрия, Германия) и России. Сырьем для производства препарата является плазма доноров-реконвалесцентов или доноров ранее вакцинированных специфической вакциной для профилактики клещевого энцефалита. Лечебно-профилактический эффект специфического иммуноглобулина обусловлен вируснейтрализующей активностью специфических IgG. В России при производстве ИЧПКЭ для оценки специфической активности используют диагностический набор для постановки РТГА производства НПО «Микроген». Сам метод не является соответствующим современным требованиям к контролю качества МИБП, и не достаточно информативен. Безусловно, использование наборов реагентов для проведения ИФА для определения IgG более стандартно, тем более современные ИФА наборы для определения IgG к клещевому энцефалиту имеют калибраторы, позволяющие провести количественное определение специфических IgG, но результат выражается в разных единицах активности. Кроме этого, поскольку лечебно-профилактическое действие ИЧПКЭ связано с его способностью нейтрализовать вирус, необходимо иметь соотношение единиц, определяемых в ИФА с нейтрализующей активностью ИЧПКЭ. Решение задач унификации и повышения точности результатов контроля качества лекарственных средств неразрывно связано с использованием фармакопейных стандартных образцов (ФСО). Соотнесение результата анализа с таким стандартом позволяет получать сопоставимые результаты при применении разных методов и, в отношении ИЧПКЭ, наборов ИФА разных производителей. Таким образом разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности

иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита является актуальной и своевременной.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций обеспечена анализом имеющейся по теме диссертации литературы, биотехнологических, статистических, иммунологических методов и репрезентативным числом проведенных исследований.

Все изложенное позволяет считать результаты диссертационного исследования достоверными, а выводы обоснованными, соответствующими поставленным задачам.

Научная новизна

При выполнении работы обоснованы технологические подходы к получению фармакопейных стандартных образцов (ФСО), обеспечивающих стабильность аттестуемых характеристик в процессе хранения, близость состава и свойств исследуемым иммуноглобулинам человека против КЭ, внутрисерийную однородность. Использование полученного ФСО позволило научно обосновать усовершенствование методики определения специфической активности иммуноглобулина человека против КЭ на основе РТГА, что позволяет добиться снижения вариабельности результатов. Применение ФСО при постановке ИФА с использованием наборов реагентов разных производителей позволяет унифицировать получение результатов.

Практическая значимость

На основании разработанного ФСО получен патент на изобретение RU 2735782C1 «Способ получения стандартного образца содержания антител IgG человека к вирусу клещевого энцефалита».

Разработан способ расчета концентрации IgG к вирусу КЭ, что позволяет получать результаты, сопоставимые с данными метода параллельных линий, оптимизировать процедуру подбора разведений и способ обработки данных ИФА.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности, подтверждение публикаций автора

Диссертация построена по традиционной схеме, изложена на 133 страницах, состоит из введения, главы литературного обзора, главы материалы и методы исследования, главы «РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАКОПЕЙНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА», главы «АТТЕСТАЦИЯ ФАРМАКОПЕЙНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА», главы «ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФАРМАКОПЕЙНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА», главы «РАЗРАБОТКА НОРМАТИВНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ НА ФАРМАКОПЕЙНЫЙ СТАНДАРТНЫЙ ОБРАЗЕЦ», Заключения, Выводов, Списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и трех приложений.

Работа изложена на 133 страницах, иллюстрирована 32 таблицами, 11 рисунками. Список литературы включает 152 источника, 99 на русском языке, 53 на английском.

В общей характеристике работы обоснована актуальность темы исследования, определены цель, задачи диссертационной работы, методология проведенного исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту, научная новизна и практическая значимость работы, описана апробация результатов исследования, их внедрение.

В Главе 1 Обзор литературы представлен анализ современной научной литературы отражающий информацию об иммуноглобулине человека против клещевого энцефалита, его характеристики и роль в терапии заболевания и экстренной профилактике, методы контроля специфической активности препарата направления совершенствования этих методов. Обзор содержит анализ имеющейся научной литературы по теме диссертации, в нем присутствует авторская оценка материалов и их связь с результатами,

полученным непосредственно самим автором. Проведенный автором анализ имеющейся по теме диссертации литературы подтверждает ее актуальность.

Глава методология и методы исследования написана четко и информативно. Стиль подачи информации свидетельствует о том, что автор полностью владеет методами, которые описывает. В главе представлена информация об использованных автором объектах исследования, материалах и методах. Методы, использованные автором, могут быть воспроизведены.

Достаточно подробно и интересно представлены статистические методы, использованные автором. Статистическая обработка полученных автором результатов является несомненным плюсом работы.

В Главе 3 автором представлено обоснование способа получения фармакопейного стандартного образца, выбор стабилизатора, характеристики кандидатного стандартного образца, его показатели, стабильность. Развитие изложенных в Главе 3 результатов отражено в Главах 4 и 5, которые содержат характеристики специфической активности стандартного образца в реакциях РТГА и ИФА. Автором установлена единица активности, определенная в нейтрализующим титром в реакции нейтрализации. Эта «условная» единица позволяет унифицировать результаты и проводить сравнение активности иммуноглобулина клещевого энцефалита независимо от используемого набора ИФА или лаборатории. Все результаты, представленные в вышеуказанных главах, имеют хорошую статистическую обработку, которая позволила автору сделать выводы. Данные, изложенные в главах 3-5 позволили автору разработать научно-техническую документацию на ФСО, алгоритм получения которого изложен в Главе 6. В Заключение автором проводится анализ проведенной работы и обсуждении результатов изучаемой проблемы в контексте с имеющимися в литературе данными. Выводы, сделанные автором в итоге проведенной работы, полностью основываются на представленном материале.

Степень достоверности и апробация результатов этой комплексной работы не вызывает сомнений. Все полученные в ходе исследования экспериментальные данные хорошо представлены – по материалам диссертационного исследования получен патент РФ и опубликовано 12 научных работы, из них 3 - в журналах, рекомендованных ВАК. Материалы работы были представлены на четырех научных конференциях. Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают содержание диссертации, поставленные цели и задачи.

Вопросы и замечания

Оценивая представленную работу в целом положительно есть ряд вопросов, которые требуют уточнения:

1. В тексте диссертационной работы есть ряд опечаток, которые не уместны:
 - не уместно использовать ссылку на источник 177 (страница 13) – в списке литературы всего 152 источника;
 - автор использует как название штамма К-23, так и К-32 (страница 23) ;
 - не всегда уместно по тексту диссертации используется ссылка 149;
2. В обзоре литературы автор пишет, что в России доля других флавивирусных инфекций (сравнивая с клещевым энцефалитом) крайне низка. При разработке фармакопейного стандартного образца (ФСО) такое исключение не очень уместно. Нельзя полностью исключить японский энцефалит, западный нил, наличие вакцинации для профилактики желтой лихорадки. Скорее всего это вопрос к донорам плазмы, но обсуждать возможность серологического перекреста между флавивирусам при разработке ФСО необходимо. Зарубежные исследователи, в том числе и те, на которых ссылается автор, такие исследования проводили. Возможно, надо было провести сравнительное исследование готового ФСО в реакции нейтрализации с разными штаммами флавивирусов (для демонстрации специфичности) или/и в ИФА с исследованием авидности.
3. Автору следовало подчеркнуть, что для получения препарата ФСО

использовалась плазма доноров, которые были привиты вакциной на основе штамма «Софьин». Это могло быть достаточным обоснованием того, почему в реакции нейтрализации использовался штамм дальневосточного субтипа. Учитывая циркуляцию в Российской Федерации трех субтипов вируса клещевого энцефалита (КЭ) следовало продемонстрировать вируснейтрализующую активность ФСО по отношению ко всем субтипам вируса КЭ.

Тем не менее, сделанные замечания не носят принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы.

Заключение

Диссертационная работа Кормщицовой Елены Сергеевны «Разработка фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита» представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой, на основе выполненных автором исследований, решена задача получения фармакопейного стандартного образца для определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, определены его характеристики, включая специфическую активность по разработанной методике определения специфической активности иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита на основе иммуноферментного анализа.

Диссертация и автореферат полностью соответствуют критериям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, 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

