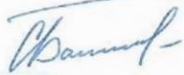




**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ  
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

Федеральное казенное учреждение здравоохранения  
«Иркутский ордена Трудового Красного  
Знамени научно-исследовательский  
противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»  
**ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский  
противочумный институт Роспотребнадзора**  
664047 Иркутск, Трилиссера, 78  
Тел. 22-01-35, факс 22-01-40  
E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru  
<http://irknipchi.ru/>  
ОКПО 01898090, ОГРН 10223801543017  
ИНН/КПП 3811015807/381101001

**УТВЕРЖДАЮ**  
Директор Иркутского научно-  
исследовательского  
противочумного института

 С.В. Балахонов  
« 5 » октября 2023 г.



**ОТЗЫВ**

ведущей организации Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на диссертацию Кошкидько Александры Геннадьевны «Совершенствование технологии производства эритроцитарных препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. - биотехнология

Диссертационная работа Кошкидько Александры Геннадьевны посвящена совершенствованию технологии производства эритроцитарных препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя.

Для проведения эффективного мониторинга туляремии необходима разработка новых методов индикации, создание высокочувствительных тест-систем и диагностических лиофилизированных препаратов.

В настоящее время в лабораториях многих стран постоянно разрабатываются и совершенствуются диагностические технологии для индикации и идентификации особо опасных агентов, одним из которых является туляремиальный микроб.

Разработка эритроцитарных диагностикумов остается наиболее актуальным направлением за счет доступности сырья, простоты производства и применения, о также возможности усовершенствования существующих технологий с учетом их безопасности, стабильности, эффективности и качества.

Использование в лабораторной диагностике туляремии эритроцитарных диагностикумов – набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный антигенный жидкий» («РНГА-Тул-Аг-СтавНИПЧИ») и набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый жидкий» («РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ») в жидкой форме – показало их существенные недостатки, связанные с транспортировкой, во время которой возможно несоблюдение режимов холодной цепи, что приводит к потере их биологической активности. В связи с этим возникает необходимость в разработке лиофилизированных форм, позволяющих сохранять их биологические свойства.

Проведенные исследования позволили установить достаточно высокую эффективность предлагаемых препаратов. Поэтому **актуальность** темы исследования, выбранной диссертантом, не вызывает сомнений.

**Цель и задачи исследования** сформулированные автором, представляются научно обоснованными, направлены на совершенствование технологии производства путем лиофильного высушивания эритроцитарных препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя и внедрение приемов менеджмента риска. **Положения**, выносимые на защиту, конкретные и четкие. Выбор методов исследования адекватен целям диссертационной работы и позволил автору получить новые данные и решить все сформулированные в диссертационной работе задачи.

Результаты работы имеют несомненную **теоретическую и практическую значимость**: разработанные композиции сред высушивания и подобранные режимы лиофилизации диагностикумов эритроцитарных и 50 % формализированных эритроцитов барана дают возможность сохранять их биологические свойства длительное время и расширить температурный диапазон

при транспортировании, увеличить срок хранения высушенных препаратов, получить стабильные высокочувствительные, специфичные препараты и проводить постановку РНГА с применением стандартного 0,9% физиологического раствора.

Для повышения качества производства, контроля, хранения, транспортирования, использования и утилизации наборов реагентов диагностикумов эритроцитарных туляремиальных сухих применены приёмы менеджмента рисков с разработкой «Матрицы последствий и вероятностей», содержащей информацию о причинах возникновения и последовательности событий по каждому опасному фактору производственного процесса.

Материалы научных разработок легли в основу двух методических рекомендаций: «Метод управления рисками в системе менеджмента качества», и «Методы определения стабильности основных функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики *in vitro*: долговечность при хранении, стабильность при транспортировании и при использовании», оба документа одобрены Ученым советом Ставропольского противочумного института и утверждены директором института, уровень внедрения – учрежденческий.

Практическая значимость подтверждена проведением межлабораторных, квалификационных испытаний и утверждением следующих нормативных документов (НД): пусковой регламент (ПУР) на Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремиальный иммуноглобулиновый сухой» («ДЭТ-Иг») № 01897080-38-20, технические условия (ТУ) 21.20.23-056-01897080- 2020, инструкция по применению, маркировка первичной и вторичной упаковки; ПУР на Набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный туляремиальный антигенный сухой» («ДЭТ-Аг») № 01897080-37-20, ТУ 21.20.23-055-01897080- 2020, инструкция по применению, маркировка первичной и вторичной упаковки. Нормативные документы рассмотрены Ученым советом

Ставропольского противочумного института и одобрены его решением, утверждены директором института (протокол № 8 от 10.12.2020). Уровень внедрения — учрежденческий.

Полученные диссертантом данные и материалы диссертации используются при подготовке курсантов по программам дополнительного профессионального образования на базе Ставропольского противочумного института в разделе по серологической диагностике возбудителя туляремии.

**Обоснованность и достоверность** полученных результатов подтверждается репрезентативным объемом статистически обработанных данных, полученных с использованием современного поверенного оборудования.

Научной **новизной** данной работы является то, что принципиально доказана возможность стабилизации эритроцитарных препаратов за счет разработки комплексных сред высушивания, содержащих сахарозу, желатин, тиомочевину, азид натрия, твин 80, позволяющих сохранить их свойства при замораживании и лиофилизации. Разработка лиофилизированных форм диагностических эритроцитарных туляремиальных наборов и режимов лиофилизации эритроцитарных диагностикумов и 50 % формализированных эритроцитов барана позволила обеспечить сохранение физико-химических и иммунологических свойств, а также увеличить срок годности. **Впервые** внедрены методические приемы в процессе менеджмента риска, что способствует снижению идентифицированных опасностей до приемлемого уровня. Приоритетность выполненных исследований подтверждена 3 патентами РФ на изобретение: «Универсальная среда высушивания для стабилизации эритроцитарных диагностикумов туляремиальных» (№ 2708636 от 10.12.2019); «Способ приготовления иммуноглобулинового эритроцитарного туляремиального» (№ 2747420 от 04.05.2021) и «Способ лиофилизации эритроцитарных диагностикумов туляремиальных» (№ 2749355 от 09.06.2021).

Диссертационная работа выполнена автором в рамках плановой научно-исследовательской темы «Оптимизация технологических этапов производства, направленная на повышение качества и стабильности эритроцитарных

препаратов для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя» (2019-2021 гг.), № госрегистрации АААА-А19-119032590022-8.

По своей структуре диссертационная работа Кошкидько А. Г. построена по классической схеме, изложена на 175 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 160 отечественных и 66 зарубежных литературных источников, и приложений. Работа содержит 24 таблицы, 24 рисунка и 13 приложений.

Во введении приведён подробный анализ литературных данных.

В первой главе приводится обзор существующих в современный период перспективных методов стабилизации диагностикумов, путем подбора компонентов сред и режимов лиофилизации, описаны приемы проведения менеджмента риска препаратов для улучшения их качества, разработки и контроля экспериментальных производственных диагностических наборов со всеми необходимыми ингредиентами.

Вторая глава традиционно раскрывает содержание используемых автором методов, характеризует объем и методы статистической обработки материала.

Третья глава посвящена разработке компонентов защитных сред, схем лиофилизации диагностикумов эритроцитарных туляремиальных и 50 % формализированных эритроцитов барана, описанию контроля их свойств. Диссертантом установлено, что аналитическая чувствительность диагностикума эритроцитарного туляремиального с концентрацией  $7,8 \times 10^5$  м.к./мл при использовании макрометода и  $1,56 \times 10^6$  м.к./мл – микрометода характерна для диагностикумов лиофилизированных с вариантами сред высушивания 2/1 и 15/1. В постановке реакции с гетерологичными штаммами (*B. abortus*, *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium*, *E. coli*) получен отрицательный результат в 100 % случаях. Аналитическая чувствительность диагностикума туляремиального антигенного оказалась выше при использовании этих же серий сред высушивания и составила 1:40000 – макрометодом и 1:20000 – микрометодом с

туляремийной сывороткой. Проверка специфичности диагностикума показала отсутствие перекрёстных реакций с гетерологичными антителами, содержащимися в бруцеллёзной (ФСР 2012/13323); холерной (ФСР 2007/00468) и сальмонеллёзной (РЗН 2017/5914) сыворотках.

При изложении материала собственные данные обсуждаются в сравнении с литературными источниками. Представлены основные этапы производства диагностикумов. Определены оптимальные условия культивирования, отобраны производственные штаммы и штаммы для контроля литических свойств, установлен срок хранения препаратов.

Глава 4 посвящена изучению стабильности и определению диагностической ценности наборов реагентов диагностикумов эритроцитарных туляремийных сухих.

На основании проведенных исследований автор Александра Геннадьевна показала, что благодаря простоте и достаточно высокой чувствительности препаратов, возможности хранения и условий транспортирования в большом диапазоне температур, разработаны лиофилизированные наборы реагентов, которые можно использовать при возникновении вспышек туляремии в полевых условиях без наличия специального оборудования.

Проведена апробация набора реагентов «ДЭТ-Иг» на полевом материале (вода, экскременты мышевидных грызунов, погадки хищных птиц, мумифицированный труп полевки, органы и смывы с грудной полости павших животных), исследованном коммерческими препаратами в иммуноферментном анализе с магноиммуносорбентом (ИФА-МИС) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). Диссертантом установлено, что диагностическая чувствительность составила 90 % (из 21 положительной (в ИФА и ПЦР) пробы 19 были положительными), диагностическая специфичность – 96 % (гемагглютинация не наблюдалась в 50 пробах из 52). Это позволило сделать вывод о соответствии «ДЭТ-Иг» его назначению: обнаружению возбудителя туляремии в объектах окружающей среды в РНГА.

Апробация набора реагентов «ДЭТ-Аг» проведена на пробах клинического материала, положительных при исследовании коммерческими препаратами в иммуноферментном анализе (ИФА) и реакции агглютинации. Установлена диагностическая чувствительность (93 %) и диагностическая специфичность (90 %) препарата, что подтверждает соответствие набора реагентов «ДЭТ-Аг» назначению: анализу сывороток крови человека на наличие специфических антител к *F. tularensis* в РНГА.

Отсутствие статистически значимого различия и наличие прямой сильной корреляционной связи между данными эталонных методов (ИФА, ПЦР и РА) и метода РНГА с экспериментальными наборами реагентов диагностикумов эритроцитарных туляремиальных свидетельствуют о том, что эти методы позволяют получить близкие по значимости результаты при обнаружении антигена в биологическом материале, объектах окружающей среды и специфических антител в сыворотках животных и людей больных, переболевших и вакцинированных против туляремии.

В главе 5 «Проведение менеджмента рисков при производстве и использовании наборов реагентов диагностикумов эритроцитарных туляремиальных лиофилизированных» приведены данные проведения менеджмента рисков на каждом этапе жизненного цикла медицинских изделий (МИ). Биотехнология производства набора реагентов «ДЭТ-Аг» состоит из подготовительных, вспомогательных работ и включает 6 технологических процессов. Группой экспертов определены 13 возможных причин возникновения и последовательность событий по каждому опасному фактору производственного процесса, которые отражены в файле менеджмента рисков. Для удобства проведения дальнейшего анализа данные риски объединены и идентифицированы как «Ошибки в технологическом процессе при производстве».

Вероятные опасности возникновения риска возможны на всех 6 уровнях и для их визуализации создана «Матрица последствий и вероятностей». Установлена последовательность идентификации возникающих рисков, а

также порядок корректирующих действий, направленных на устранение выявленных рисков. Так, биологический риск может возникнуть вследствие использования непредусмотренных для данного изделия видов анализируемого биологического материала и привести к незащищенному контакту с последним.

В результате проведения исследований оформлены методические рекомендации «Метод управления рисками в системе менеджмента качества», в которых представлены инструменты управления рисками для качества готовой продукции.

На основании технологических процессов, информации по рискам и принятых мер по их уменьшению или устранению на всех этапах производственного процесса по изготовлению лиофилизированных препаратов «ДЭТ-Аг» и «ДЭТ-Иг» оформлена нормативная документация (пусковые регламенты, технические условия, инструкции по применению, маркировка, которая одобрена решением ученого совета).

В ходе проведенных лабораторных, межлабораторных, квалификационных испытаний, проведенных совместно с сотрудниками лаборатории биологического и технологического контроля Ставропольского противочумного института, экспериментально-производственные серии диагностикумов показали своё соответствие предъявляемым к данным препаратам требованиям нормативной документации.

В разделе «Заключение» подведен итог значительной по объему проделанной работы, обобщены и проанализированы полученные данные.

Выводы обоснованы, соответствуют задачам исследования и сформулированы на основе анализа фактического материала и логично вытекают из содержания работы. Интерпретация полученных результатов не вызывает сомнений. Текст диссертации в достаточной мере иллюстрирован. Наличие заключений в конце глав облегчает восприятие материала.



Диссертационная работа А.Г. Кошкидько, основные положения и выводы, сформулированные автором, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы полностью соответствуют отрасли науки «Биологические науки», паспорту специальностей 1.5.6. Биотехнология по п. 2 Генетические, селекционные и иммунологические исследования в прикладной микробиологии, вирусологии и цитологии; п. 9 Медицинские биотехнологии. Создание лекарственных форм, комбинированных препаратов и биологически активных препаратов. Технологии производства вакцин. Средства диагностики вирусных, бактериальных и грибных болезней; п. 24 Иммунобиотехнология и п. 25 Технологии биологически-активных соединений и биопрепаратов.

По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, из них 6 статей – в журналах из списка изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, восемь статей в прочих изданиях, а также 8 нормативных документов (регламенты производства, технические условия, инструкции по применению, маркировки первичных и вторичных упаковок) и 2 методических рекомендаций.

Материалы исследования представлены на российских, межгосударственных научных конференциях и конференциях с международным участием.

Автореферат и опубликованные работы в полной мере отражают содержание диссертационной работы, соответствуют теме диссертационного исследования.

**Соответствие автореферата основным положениям диссертации.** Автореферат оформлен в соответствии с требованиями стандарта, а его содержание соответствует основным положениям диссертации и дает полное представление о проделанной работе.

**Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы.** Полученные в ходе исследования результаты и выводы могут быть использованы при проведении лабораторной диагностики туляремии

для индикации возбудителя данной инфекционной болезни, а также в практике производства медицинских изделий «ДЭТ-Иг» и «ДЭТ-Аг». Также в дальнейшем рекомендуем ускорить подготовку пакета документов для регистрации в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения (Росздравнадзор).

### **Заключение**

Диссертационная работа Кошкидько Александры Геннадьевны на тему: «Совершенствование технологии производства эритроцитарных препаратов для диагностики туляремии и индикации её возбудителя», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи, связанной с совершенствованием технологии производства и контролем эритроцитарных препаратов для серологической диагностики туляремии, индикации её возбудителя, методами стабилизации путем лиофилизации, определением рисков при производстве диагностических препаратов.

Представленные на защиту положения диссертации можно квалифицировать как научное достижение в современной биотехнологии.

Таким образом, диссертация Кошкидько А. Г. «Совершенствование технологии производства эритроцитарных препаратов для диагностики туляремии и индикации её возбудителя» является законченной научно-квалификационной работой и по актуальности, методическому уровню, научной новизне полученных результатов, их практической значимости диссертация соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., (с дополнениями и изменениями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Кошкидько Александра Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Отзыв на диссертационную работу А.Г. Кошкидько обсужден и одобрен на заседании Ученого совета Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол № 6 от 03.10.2023 г.).

Заведующая отдела эпидемиологии Федерального казенного учреждения здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека кандидат медицинских наук Куликалова Елена Станиславовна



Старший научный сотрудник лаборатории диагностических сывороток научно-производственного отдела того же института кандидат биологических наук Андреевская Нина Михайловна



Подписи кандидата медицинских наук Е.С. Куликаловой и кандидата биологических наук Н.М. Андреевской заверяю

Ведущий специалист отдела кадров и специальной части института:  
Черникова Ирина Валентиновна



Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора) 664047 Иркутск, ул. Трилиссера, 78: Тел. 8(3952) 22-01-35; факс 22-01-40; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru