

ОТЗЫВ

официального оппонента, заслуженного деятеля науки РФ, доктора медицинских наук, профессора Ценовой Галины Яковлевны на диссертационную работу Калашниковой Екатерины Александровны на тему: «Совершенствование системы обеспечения контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша на основе экспрессных методов анализа», представленную на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств

Актуальность работы.

Диссертационное исследование посвящено актуальной проблеме – разработке и получению иммунобиологических препаратов для стандартизированного контроля методами РКОА и ИФА технологии производства вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша.

Иммунизация вакцинами с цельноклеточным коклюшным компонентом привела к существенному снижению заболеваемости дифтерией и коклюшем и смертности от этих инфекций. Между тем, периодические вспышки коклюша отмечаются во всех странах, в том числе индустриально развитых, с традиционно высоким уровнем охвата населения вакцинацией. Это согласуется с позицией ВОЗ, указывающей на угасание поствакцинального иммунитета через 5 лет после первичной вакцинации и однократной ревакцинации. В этой связи вакцинопрофилактика как основа эпидемиологического надзора приобретает новые черты и ставит задачи совершенствования и/или создания новых составов вакцинных препаратов. Сказанное подчеркивает актуальность настоящего исследования, посвященного обеспечению стандартными методами контроля, соответствующими международным требованиям, отечественных вакцинных препаратов нового поколения.

Степень обоснованности и достоверности положений, выносимых на защиту, выводов, рекомендаций обусловлена высоким методическим уровнем, соответствием методов задачам исследования, адекватным подбором реагентов для конструирования препаратов, оптимальным количеством экспериментальных животных, корректной статистической обработкой всех результатов.

Работа выполнена с использованием сертифицированных реагентов отечественных и зарубежных производителей. Гипериммунные сыворотки

получены от более чем 100 животных, иммунизированных по оригинальным схемам, обеспечивающим стабильно высокий уровень антител, контроль продукции специфических антител проведен в сравнительных опытах с применением общепринятых и разработанных автором методик. Автором использован обширный набор современных микробиологических, иммунологических, биохимических и других методов, адекватных цели и задачам исследования. Все полученные данные подвергнуты тщательной статистической обработке, что убеждает в достоверности и обоснованности выводов и положений диссертационной работы, выносимых на защиту, что также убеждает в высоком качестве как антительных компонентов для конструкции тест-систем, так и самих тест-систем для контроля качества вакцинных препаратов для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша.

Научная новизна исследования.

Впервые на основе оригинальных приемов разработана технология получения иммунобиологического препарата - тест-системы для определения дифтерийного, столбнячного и коклюшного антигенов в РКОА «ТН-ДСК-КОА», утверждены нормативно-техническая документация, промышленный регламент. Препарат включен в проекты ФСП новых многокомпонентных вакцин АКДС-Геп В+Ніb и аАКДС-Геп В+Ніb.

Впервые разработана отечественная тест-система «ИФА КАГ», утверждена нормативно-техническая документация, тест-система включена в качестве контрольного препарата в проект ФСП «Вакцина коклюшная бесклеточная очищенная, субстанция». Вакцинный препарат является первой отечественной бесклеточной коклюшной вакциной, имеющей перспективу использования для ревакцинации младших школьников, подростков и взрослых.

Полученные результаты свидетельствуют:

- о возможности использования коаггулинирующих диагностикумов для контроля промежуточных компонентов вакцины;
- о преимуществе разработанной автором схемы иммуноаффинного выделения специфических антител из гипериммунных сывороток над известными ранее, что позволяет увеличить активность антител в 20-50 раз;
- о совершенствовании технологии получения бактериально-клеточного реагента, содержащего белок А, с высокой иммуноглобулинсвязывающей способностью;

- о получении тест-системы для контроля цельноклеточных и бесклеточных компонентов вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша, отвечающей требованиям международных стандартов и защищенной утвержденными технологическими документами.

Получены также новые данные, свидетельствующие о высокой чувствительности РКОА, составляющей 0,03-0,06 Lf минимально выявляющих дифтерийного и столбнячного анатоксинов при отсутствии перекрестных реакций при испытании большого набора гетерогенных антигенов.

На разных этапах получения тест-систем для контроля качества вакцин автором внесены существенные усовершенствования, в частности, предложено и обосновано приготовление диагностикумов на основе окрашенного бактериально-клеточного реагента и кроличьих антител, что упрощало использование готового препарата при контрольных исследованиях.

Структура и оформление диссертации соответствует требованиям, указанным в ГОСТ Р 7.0.11-2011. Материалы диссертации изложены на 185 страницах машинописного текста, включающего введение, обзор литературы, 4 главы собственных исследований, выводы, список использованной литературы, приложения. Иллюстративный материал представлен 16 рисунками и 42 таблицами. Список литературы содержит 200 источников: 99 отечественных и 101 зарубежную публикацию.

Обращает внимание тщательность оформления работы, четкий научный стиль, ясное изложение сложных методов исследования. Таблицы и рисунки наглядно иллюстрируют результаты исследования и их анализ. Список литературы содержит самые современные источники.

Автореферат полностью соответствует положениям диссертации.

По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК.

Основные положения работы были доложены на пяти российских форумах, научно-практических конференциях с международным участием в 2010-2012 г.г.

Практическая значимость исследования и внедрение результатов в практику.

Разработана технология получения иммуноферментной тест-системы для контроля специфической активности бесклеточной коклюшной вакцины, определены направления ее использования. На ИФА КАГ утверждены технические условия ТУ 9388-167-14237183-2013. Наличие такого

диагностикума позволяет обеспечить эпидемиологическую службу и здравоохранение стандартизированной вакциной.

Разработан тест-набор ТН-ДСК-КОА для контроля технологических приемов производства вакцины для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша, соответствующий международным стандартам. Предложено использование указанного набора для оценки подлинности аналогичных вакцин зарубежного производства. На набор реагентов ТН-ДСК-КОА утверждены технические условия ТУ 9388-164-14237183-2012, утвержден промышленный регламент на производство тест-набора, что открывает перспективу обеспечения эпидемиологической службы и практического здравоохранения стандартами контроля отечественных цельноклеточной и бесклеточной вакцин. Препарат прошел широкую апробацию, положительные результаты которой отражены в актах.

Отмечая существенную научную и практическую значимость выполненного Екатериной Александровной Калашниковой диссертационного исследования, возникли вопросы для уточнения и дискуссии.

1. Чем обусловлен выбор коаггулинирующих препаратов для производственного контроля вакцин? Известно, что чаще коаггулинирующие диагностикумы используются для диагностических целей.
2. Вами показана строгая специфичность разработанных тест-систем. Какие гетерогенные антигены были использованы для оценки их специфичности?
3. Вами показана высокая чувствительность РКОО при выявлении дифтерийного и столбнячного анатоксинов: в диапазоне 0,03-0,06 Lf. Существенны ли различия в чувствительности РКОО при определении отдельных анатоксинов, если да, то чем это можно объяснить?

Рекомендации по использованию результатов работы.

Материалы диссертационной работы могут быть представлены в виде информационного письма или пособия для специалистов, разрабатывающих лекарственные и вакцинные препараты, для стандартизации их активности и специфического контроля.

Заключение.

Таким образом, диссертационная работа Калашниковой Екатерины Александровны «Совершенствование системы обеспечения контроля качества комбинированных вакцин для профилактики дифтерии, столбняка и

коклюша на основе экспрессных методов анализа», выполненная под руководством доктора биологических наук, профессора Николаевой А.М., является научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной задачи – разработки новой методологии получения диагностического набора для контроля активности многокомпонентных вакцин с цельноклеточным и бесклеточным коклюшным компонентом для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша, гепатита В, имеющей важное значение для вакцинологии и эпидемиологического надзора за актуальными инфекциями, и соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 14.04.01 – технология получения лекарств.

Официальный оппонент:

заведующая лабораторией бактериальных капельных инфекций

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

д.м.н., засл. деятель науки РФ,

профессор

Галина Яковлевна Ценева

Подпись Галины Яковлевны Ценовой удостоверяю.

Секретарь института

К.А. Смирнова

ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д.14

Тел.: (812) 233-20-92, факс: (812) 232-92-17

E-mail: pasteur@GT2978.spb.edu