

Перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной живой

И. В. Касина, С. А. Алексеева, З. Е. Бердникова, Т. И. Немировская, А. С. Алехина

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Поступила 05.10.2017 г. Принята к публикации 26.10.2017 г.

В статье представлены перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной живой (далее по тексту — вакцина туляремийная) по показателям «Подлинность», «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)» и «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов». Изучена возможность совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Подлинность» с помощью коммерческого диагностического набора реагентов иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя туляремии («ИХ тест-система *F. tularensis*»). Для оптимизации и усовершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)» в качестве дополнительной питательной среды для определения количества живых микробных клеток рекомендовано использовать готовую к применению питательную среду для культивирования и выделения туляремийного микроба. Предложено усовершенствовать методику проведения экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» за счет исключения стадии пересева на тигмогликолевую среду на 5–7 сут, что экономически и практически целесообразно, а также снизит риск возможности получения ложноположительных результатов.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*; вакцина туляремийная живая; подлинность; специфическая активность; количество живых микробных клеток; питательная среда для культивирования и выделения туляремийного микроба (FT-агар), отраслевой стандартный образец.

Библиографическое описание: Касина ИВ, Алексеева СА, Бердникова ЗЕ, Немировская ТИ, Алехина АС. Перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной живой. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17(4): 240–247.

Экспертиза качества иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) содержит комплекс мер, включающий проведение измерений, анализ испытаний совокупности свойств и характеристик, а также их сравнение с установленными требованиями с целью определения соответствия полученных и требуемых величин параметров качества и является основной составляющей в системе менеджмента качества. Усовершенствование экспертизы качества ИЛП, в том числе за счет экономических и технологических показателей, также является неотъемлемой частью системы качества [1–4].

Экспертиза качества вакцины туляремийной живой (далее по тексту — вакцина туляремийная) проводится с целью подтверждения соответствия показателей качества требованиям нормативной документации (далее НД) [5].

Цель работы — оценка перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной по показателям: «Подлинность», «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)» и «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов».

В задачи исследования входило проведение испытаний образцов вакцины туляремийной по показателям качества «Подлинность», «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)», «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» по предлагаемой нами усовершенствованной методике и анализ полученных результатов.

Материалы и методы

Проведены испытания отраслевого стандартного образца вакцины туляремийной живой (ОСО 42-28-398-2016) серии 7 иммунохроматографическим методом по показателю «Подлинность». В испытании применяли набор реагентов иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя туляремии («ИХ тест-система *F. tularensis*») серии 11 производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (г. Оболensk, Серпуховский р-н) по ТУ 9398-092-78095326-2008 (регистрационное удостоверение № ФСР 2009/05486). С помощью набора «ИХ тест-система *F. tularensis*» возможно выявление и идентификация возбудителя туляремии *Francisella tularensis* в микробных взвесьях с концентрацией 10^7 м.к./мл, полученных из колоний микроорганизмов или из объектов внешней среды путем специальной пробоподготовки. В соответствии с инструкцией по применению, готовят микробную взвесь туляремийного штамма, выращенного на плотной питательной среде, в 0,01 М натрий-фосфатном буфере, pH 7,4 (далее по тексту — РБФ: раствор буферный фосфатный). РБФ готовят *ex tempore*, стерилизация раствора не требуется. Так как туляремийная вакцина представляет собой лиофилизированную в стабилизирующей среде живую культуру вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ, пробоподготовку для испытания осуществляли следующим образом: без предварительного

культивирования препарат разводили буферным раствором. Общую концентрацию микробных клеток в суспензии определяли в соответствии с разделом НД «Специфическая активность (концентрация микробных клеток)» по ОСО мутности бактериальных взвесей 42-28-85-2017 (10 МЕ), затем разводили до концентрации 10^9 м.к./мл. Пробы прогревали на водяной бане при 56°C в течение 30 мин, центрифугировали в течение 2 мин при 10000 об/мин, затем разводили с помощью РБФ до концентрации 10^8 и 10^7 м.к./мл. Пробы вакцины в концентрации 10^9 , 10^8 и 10^7 м.к./мл исследовали с помощью набора «ИХ тест-система *F. tularensis*».

В качестве препарата сравнения в соответствии с НД на вакцину туляреминовую, использовали набор реагентов иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие туляреминовые сухие производства филиала «Медгамал» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России (серия 558).

Проведены испытания образцов четырех коммерческих серий (O9, O10, O11 и O12) вакцины туляреминовой бактериологическим методом по показателю «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)». В испытании использовали питательную среду для культивирования и выделения туляреминого микроба, готовую к применению (серия 10), производства ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора (г. Оболensk) по ТУ 9398-116-78095326-2010 и зарегистрированную на территории Российской Федерации (регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10649).

Для сравнения применяли питательную среду для культивирования и выделения туляреминого микроба сухую (FT-агар), серии 21 производства ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора (г. Оболensk) по ТУ 9398-028-78095326-2007 (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00899), рекомендованную НД на вакцину туляреминовую.

По усовершенствованной нами методике проведения испытания по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» были испытаны стандартные образцы вакцины туляреминовой. В качестве сравнения проводили испытания по методике, представленной в НД на вакцину туляреминовую.

Кроме того, был проведен анализ результатов испытаний образцов 25 серий вакцины туляреминовой живой и 11 образцов вакцины чумной живой серии 1-17 по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов».

Все препараты были исследованы в течение срока годности.

Результаты и обсуждение

Одним из основных показателей качества является подлинность препарата. В соответствии с ГФ XIII ОФС.1.8.1.0002.15 «Иммунобиологические лекарственные препараты», подлинность может подтверждаться различными лабораторными методами (биологическими, иммунобиологическими, молекулярными, химическими и физико-химическими), позволяющими специфически идентифицировать лекарственный препарат [6]. В соответствии с требованиями НД, подлинность вакцины туляреминовой определяется иммунофлуоресцентным методом с помощью коммерческого препарата — иммуноглобулинов диагностических туляреминовых флуоресцирующих или аналогичных, зарегистрированных на территории Российской

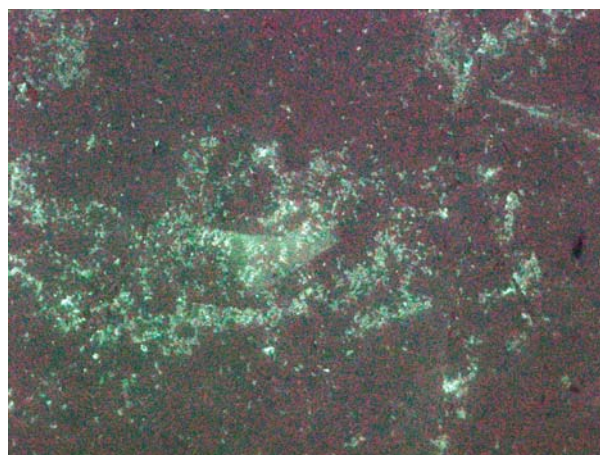


Рис. 1. Образец препарата вакцины туляреминовой, окрашенный иммуноглобулинами диагностическими туляреминовыми флуоресцирующими в рабочем разведении 1:32. Увеличение $\times 1000$.

Федерации. Метод определения подлинности основан на окраске микробных клеток туляреминого микроба специфическими иммуноглобулинами, меченными флуоресцентным красителем. Учет результатов проводится по четырехкрестовой системе. Специфическое свечение оболочки микробной клетки на 4 креста — сверкающая, а на 3 креста — яркая флуоресценция желтовато-зеленого цвета, четко контрастируемая с темным телом микробной клетки. Специфическое свечение оболочки микробной клетки на 4 и 3 креста считается положительным результатом на подтверждение наличия туляреминого микроба. Диагностические иммуноглобулины специфичны и не выявляют гетерологичные микроорганизмы. Туляреминый микроб представляет собой граммотрицательные очень мелкие ($0,1-0,5$ мкм) неподвижные полиморфные кокковидные палочки. Как видно на фотографии, при увеличении в 1000 раз, микробные клетки светятся целыми конгломератами, что затрудняет учет результатов (рис. 1). Кроме того, основанием для поиска альтернативных методов испытания вакцины туляреминовой по показателю «Подлинность» послужил и тот факт, что зарегистрированные на территории Российской Федерации иммуноглобулины диагностические туляреминовые флуоресцирующие выпускаются единственным предприятием — филиалом «Медгамал» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России.

С целью поиска альтернативных методов оценки подлинности вакцины, нами был проведен анализ диагностических препаратов, предназначенных для выявления туляреминого микроба, выпускаемых и зарегистрированных на территории Российской Федерации [7, 8]. Предпочтение имели препараты для ускоренной идентификации туляреминого микроба, осуществляемой в течение одного рабочего дня. Таким препаратом является «ИХ тест-система *F. tularensis*», предназначенная для экспресс-выявления и идентификации микробных клеток *F. tularensis* при проведении лабораторных исследований объектов окружающей среды. Тест-система представляет собой пластиковую диагностическую панель (футляр) с лункой для внесения образца и с окошком для считывания результатов (рис. 2). Специфической мишенью, наличие которой в пробе выявляет данный тест, является липополисахарид *F. tularensis*. Были проведены испытания

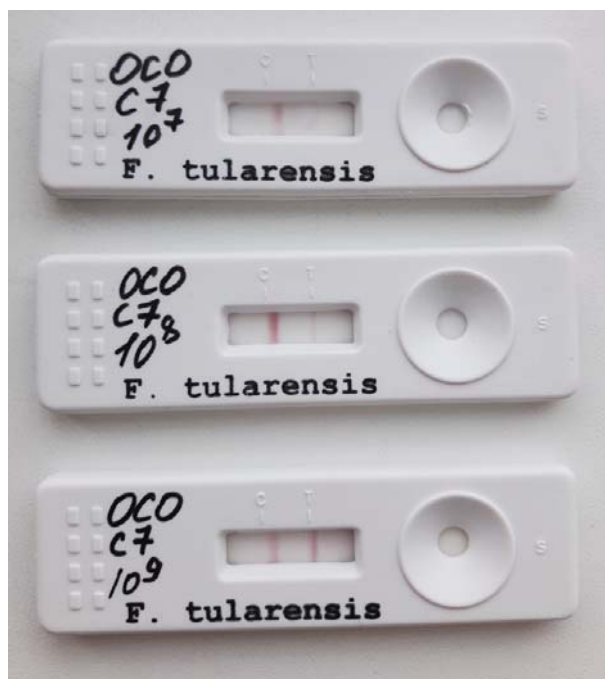


Рис. 2. Результаты подтверждения подлинности ОСО вакцины туляреминой с помощью набора реагентов для иммунохроматографического экспресс выявления и идентификации возбудителя туляремии («ИХ тест-системы *F. tularensis*»).

3 стандартных образцов вакцины туляреминой в концентрациях 10^9 , 10^8 и 10^7 м.к./мл. Для этого приготовленные (как описано в разд. «Материалы и методы») пробы вакцины в объеме 0,1 мл вносили на диагностическую панель. Через 15–20 мин учитывали результат. Положительным результатом на присутствие туляреминого микроба является наличие видимых глазом красных линий в зоне «С» и «Т», где зона «С» — контрольная полоса, а зона «Т» — опытная полоса. При этом интенсивность цвета полос не учитывается. Интенсивность полос в зоне «С» и «Т» может отличаться. Об отрицательном результате свидетельствует наличие красной линии только в зоне «С». Как видно на фотографии, в концентрации 10^7 м.к./мл в зоне «Т» тест-полоса практически не заметна, а в концентрациях 10^8 и 10^9 м.к./мл результаты явно положительные, четко видна тест-полоса (рис. 2). Таким образом, рекомендуемые нами концентрации вакцины для проведения испытания по показателю «Подлинность» составляют 10^8 и 10^9 м.к./мл.

Анализируя методику проведения испытаний в соответствии с НД и с использованием набора «ИХ тест-система *F. tularensis*» в отношении длительности пробоподготовки, собственно продолжительности исследования и учета результатов, можно сделать вывод, что в целом продолжительность проведения обоих испытаний одинакова. Приблизительное время, затрачиваемое на испытание, составляет в обоих случаях 2–2,5 ч. Однако результаты, полученные с помощью набора «ИХ тест-система *F. tularensis*», несомненно, информативнее.

Одним из основных показателей качества вакцины является «Специфическая активность», обусловленная общей концентрацией микробных клеток и количеством живых микробных клеток [1, 2, 5]. На основании результатов, полученных по данному показателю, определяется количество накожных и внутрикожных доз вакцины в ам-

пуле. Штаммы *F. tularensis* особо требовательны к условиям культивирования, они не растут на питательных средах широкого применения — мясо-пептонном агаре и бульоне, агаре и бульоне Хоттингера. Оптимальными условиями для их культивирования являются слабощелочные агаровые или желточные среды с добавлением цистеина, дефибринированной крови, тканевых экстрактов и других стимуляторов роста [9, 10, 11]. Питательная среда для культивирования и выделения туляреминого микроба (FT-агар), рекомендованная НД, является оптимальной питательной средой, обеспечивающей все необходимые условия для культивирования вакцинного штамма *F. tularensis*.

Нами было проведено испытание образцов четырех коммерческих серий вакцины туляреминой по показателю «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)» с помощью питательной среды для культивирования и выделения туляреминого микроба, готовой к применению в сравнении с питательной средой для культивирования и выделения туляреминого микроба (FT-агар), согласно требованиям НД [5]. Испытуемая, готовая к применению питательная среда для культивирования и выделения туляреминого микроба, изготовлена на основе сернокислотного гидролизата рыбной муки с цистеином, стимулятором роста гемофильных бактерий и глюкозо-витаминной добавкой (глюкоза, тиамин хлорид, кальция пантотенат), по составу аналогична FT-агару. Однако, в отличие от FT-агара, данная среда выпускается готовой в стеклянных емкостях по 250 мл в качестве агаровой основы. Глюкозо-витаминная добавка прилагается к комплекту агаровой основы и выпускается по 5 мл в стеклянном флаконе. После расплавления и охлаждения до 45–50 °C агаровой основы, в стерильных условиях в нее добавляется раствор глюкозо-витаминной добавки согласно рекомендациям фирмы-производителя. После перемешивания питательную среду разливают в чашки Петри и используют в испытании.

По ростовым свойствам обе питательные среды соответствовали требованиям НД. При посеве 10 м.к. вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ после инкубирования при температуре (37 ± 1) °C в течение 2 сут питательные среды обеспечивали рост единичных (от 5 до 7) колоний, что подтверждает их чувствительность. При посеве 100 м.к. вакцинного штамма показатель прорастания питательных сред составил от 70 до 73 % от посевной дозы. Морфология выросших колоний вакцинного штамма на обеих питательных средах после инкубирования при температуре (37 ± 1) °C в течение 5 сут была идентична. Из общего количества выросших колоний, число иммуногенных SR-типа белого цвета на FT-агаре составило 88 %, на испытуемой среде — 90 %. Степень диссоциации в виде неиммуногенных колоний серого цвета на FT-агаре составила 8 %, на испытуемой среде — 10 %, что не превышает 20 % от общего числа выросших колоний (рис. 3 и 4). Таким образом, используемые питательные среды обеспечивают стабильность основных биологических свойств микроорганизма. При сравнительном высеве образцов вакцины на обеих средах были получены близкие значения количества колониеобразующих единиц вакцинного штамма. Результаты во всех опытах показали незначительные колебания (от 5 до 12 %), входящие в 20 % диапазон, приемлемый для биологических методов. В итоге, рассчитанные количества накожных и внутрикожных доз вакцины в одной ампуле по результатам выросших коло-

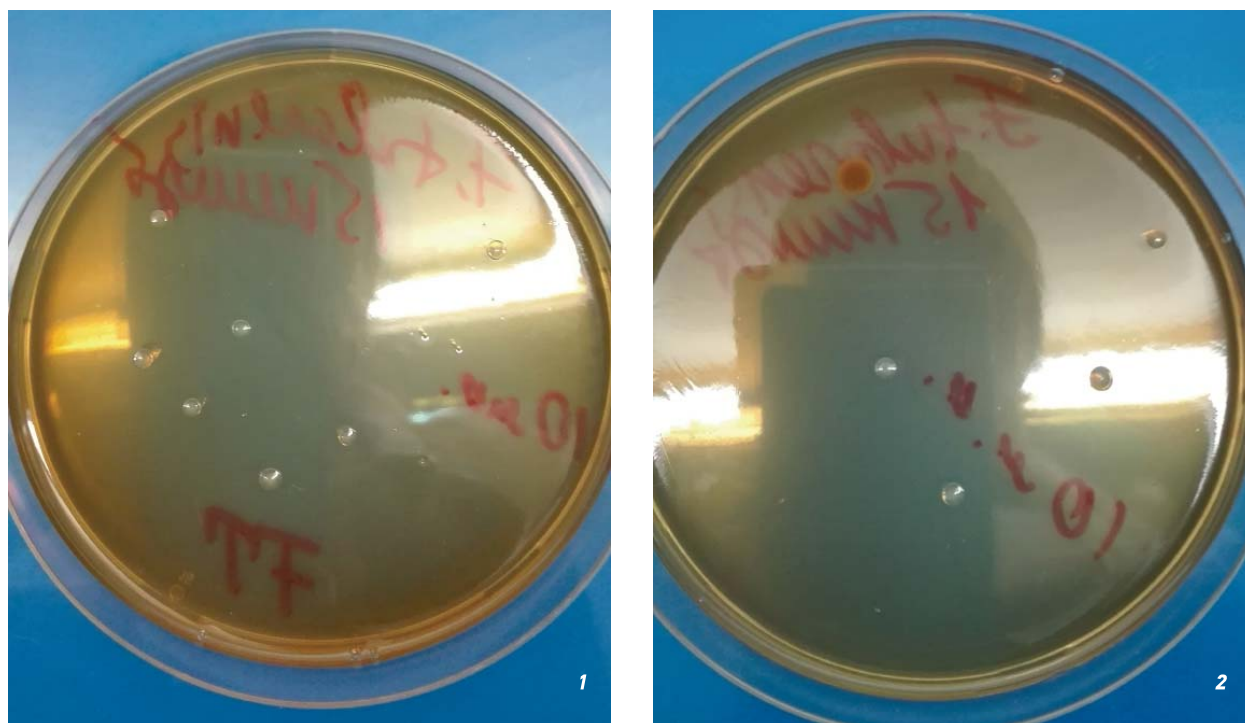


Рис. 3. Колонии вакцинного штамма *F. tularensis*, выращенные при посеве 10 м.к. после инкубирования при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ на FT-агаре (чашка 1) и на готовой к применению питательной среде (чашка 2) в течение 5 сут.

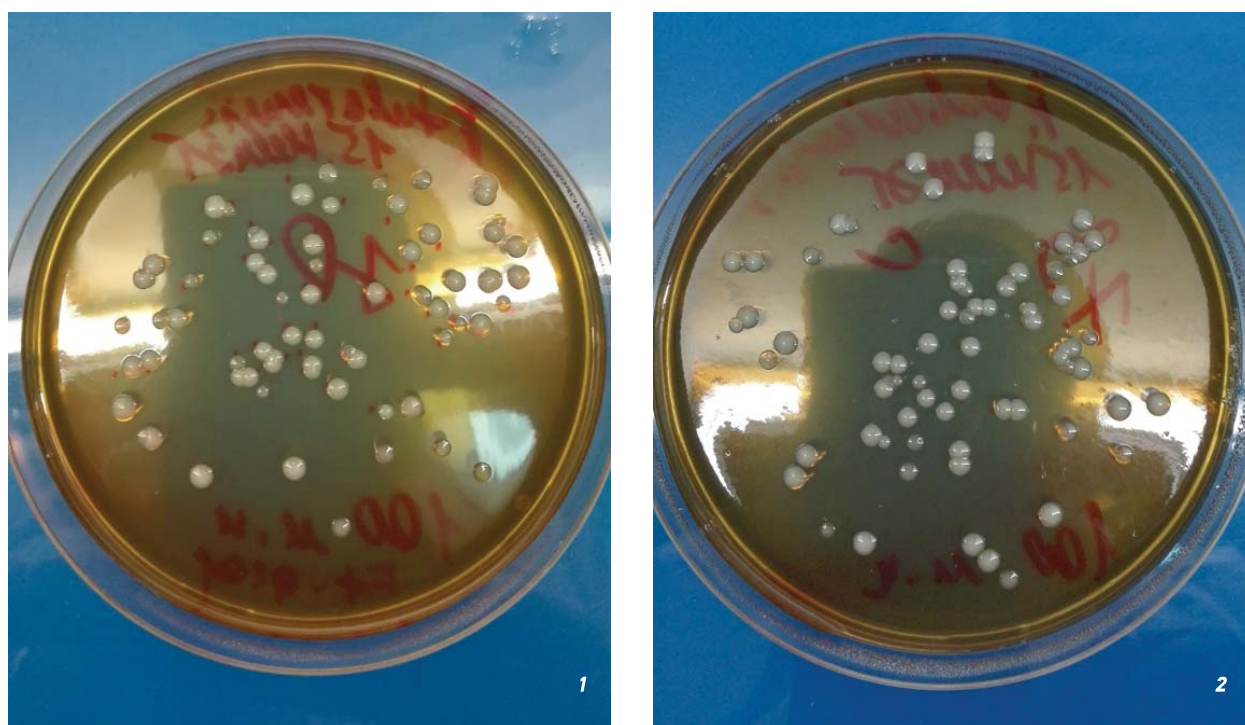


Рис. 4. Колонии вакцинного штамма *F. tularensis*, выращенные при посеве 100 м.к. после инкубирования при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ на FT-агаре (чашка 1) и на готовой к применению питательной среде (чашка 2) в течение 5 сут.

ний на обеих питательных сред, соответствовали друг другу.

Но учитывая экономические и практические показатели проведения экспертизы качества, готовая питательная среда более выгодна и удобна в применении, поскольку не требует предварительной подготовки лабораторной

посуды (мытья, укупорки и стерилизации), необходимости приготовления в лабораторных условиях (исключаются этапы взвешивания, растворения и кипячения компонентов среды, ее стерилизации). Кроме того, условия промышленного выпуска гарантируют стандартность ее состава.



Рис. 5. Результаты посева и последующего пересева на 5-е сут стандартного образца № 1 вакцины туляреминой, пробирки 1, 6 – контроль среды.



Рис. 6. Результаты посева без последующего пересева стандартного образца вакцины туляреминой, пробирки 1, 3 — контроль среды.

Таким образом, питательная среда для культивирования и выделения туляреминого микроба, готовая к применению, может быть рекомендована для внесения в нормативную документацию на вакцину туляреминовую живую как альтернативная питательная среда для определения показателя «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)».

В настоящее время испытание вакцины туляреминой по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» проводят в соответствии с требованиями НД и ГФ XIII ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность» методом прямого посева с использованием только тиогликолевой среды [12]. Каждый испытуемый образец препарата растворяют в 1 мл растворителя (0,9 % раствор натрия хлорида) и высевают в соотношении 1:20 в две емкости с тиогликолевой средой. Посевы инкубируют при двух температурных режимах ($32,5 \pm 2,5$ °C и $(22,5 \pm 2,5)$ °C в течение 14 сут. На 5–7 сутки проводят пересев на тиогликолевую среду. На 14 сутки проводят предварительный учет результатов испытания. В период инкубирования наблюдается появление в верхнем слое питательной среды слабой опалесценции, как специфического признака роста микробных клеток туляреминого вакцинного штамма в виде мелких облаковидных нежных образований на фоне прозрачной среды. Далее из каждой пробирки с посевом и «пересевом» готовят мазки, окрашивают по Граму, микроскопируют и проводят окончательный учет результатов. Препарат считают прошедшим испытание при наличии в мазке только культуры туляреминого вакцинного штамма (мелкие граммотрицательные кокковидные палочки).

Многочисленные испытания туляреминой вакцины (25 коммерческих серий), проведенные в Испытательном

центре экспертизы качества МИБП, по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» показали, что зона облаковидных образований и слабой опалесценции в первичном посеве и «пересеве» не меняется, сохраняя специфические признаки роста микробных клеток туляреминого штамма.

Особенностями ростовых свойств туляреминого микроба в жидких питательных средах является то, что его размножение происходит медленно и плохо (скудный рост по поверхности среды), что связано с аэрофильностью бактерий. Лучшими средами для выращивания бактерий туляремии являются полужидкие среды при добавлении к жидким средам коллоидов (куриного желтка, агара и т.д.), либо при аэрации среды [9–11].

В целях демонстрации отличий ростовых особенностей различных возбудителей особо опасных инфекций, нами были проведены сравнительные испытания стандартных образцов вакцины туляреминой живой (ОСО 42-28-398-2016) серии 7 и вакцины чумной живой серии 1-17 по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов». На фотографиях (рис. 6, 7 и 8) представлены результаты испытания. Посевы вакцины туляреминой, культивируемые при обеих температурах в течение 14 сут, по степени мутности визуально не отличались от контрольной незасеянной среды. В посевах вакцины туляреминой наблюдалась лишь легкая опалесценция в верхней части пробирки (рис. 6). В отличие от туляреминого микроба, чумной микроб дает обильный хлопьевидный рост (рис. 7). В связи с этим, «пересев» вакцины чумной на 5–7 сутки необходим, так как визуально нельзя отличить рост специфического микроорганизма от роста контаминанта. На рисунке 8 показаны результаты



Рис. 7. Результаты посева без последующего пересева стандартного образца вакцины туляремийной (пробирки 1–4) и образцов вакцины чумной живой (пробирки 5 и 6), пробирки 1, 3 — контроль среды.

посева и «пересева» чумной вакцины. При «пересеве» наблюдается специфический рост чумного микроба (единичные хлопьевидные включения без помутнения питательной среды). Далее, в соответствии с требованиями НД необходимо проводить идентификацию микроорганизма микроскопией мазков, окрашенных по Граму.

На основании полученных результатов считаем возможным внесение изменений в методику проведения испытания вакцины туляремийной живой по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» путем исключения стадии «пересева» на 5–7 сут. Совершенствование методики проведения испытания вакцины туляремийной живой по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» экономически и практически целесообразно, а также уменьшит риск возможности получения ложноположительных результатов.

Выводы

1. Перспектива совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Подлинность» состоит в применении коммерческого диагностического набора реагентов иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя туляремии («ИХ тест-система *F. tularensis*») в качестве альтернативного способа идентификации туляремийного микроба. При проведении данного испытания рекомендуемые концентрации вакцины составляют 10^8 и 10^9 м.к./мл.

2. Для усовершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Специфическая активность (количество живых микробных клеток)» реко-



Рис. 8. Результаты посева образца № 5 (пробирки 1 и 3) и последующего пересева (пробирки 2 и 4) образцов вакцины чумной живой.

мендована к использованию в качестве альтернативной готовая к применению питательная среда для культивирования и выделения туляремийного микроба.

3. Усовершенствование методики проведения экспертизы качества вакцины туляремийной по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» в виде исключения стадии пересева на 5–7 сутки экономически и практически целесообразно.

Литература

1. Касина ИВ, Горяев АА, Ращепкин ЛИ, Фадейкина ОВ, Немировская ТИ, Устинникова ОБ и др. Аттестация и продление срока годности новой серии отраслевого стандартного образца специфической активности и иммуногенности вакцины туляремийной живой. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2015; (4): 32–8.
2. Касина ИВ, Ращепкин ЛИ, Горяев АА, Алексеева СА, Немировская ТИ, Мовсисянц АА. Оценка качества вакцины туляремийной живой по результатам испытаний в рамках обязательной сертификации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16(4): 253–9.
3. Мовсисянц АА, Миронов АН, Меркулов ВА, Борисевич ИВ. Цели и задачи испытательного центра экспертизы качества иммунобиологических лекарственных препаратов. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2012; (1): 7–9.
4. Мовсисянц АА, Бондарев ВП, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Шимчук ЛФ. Стандарты качества иммунобиологических лекарственных препаратов — новое в Государственной фармакопее Российской Федерации. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (2): 38–41.
5. ФС.3.3.1.0019.15. Вакцина туляремийная живая. XIII изд. Т. 3. М.; 2015. С. 923–30. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.

6. ОФС.1.8.1.0002.15. Иммунобиологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 2. М.; 2015. С. 867–79. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.
7. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. Онищенко ГГ, Кутырев ВВ, ред. М.; «Шико», 2013. С. 522–3.
8. Дятлов ИА, Кутырев ВВ, Храмов МВ. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы. М.; 2012. С. 383–90.
9. Шепелин ИА, Миронов АЮ, Шепелин КА. Возбудители особо опасных бактериальных инфекций. Справочник бактериолога. М.; 2016.
10. Мещерякова ИС. Таксономия, идентификация и иммунологическая диагностика туляремии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1990.
11. Поздеев ОК. Медицинская микробиология. М.; 2004: 392–4.
12. ОФС. 1.2.4.0003.15. Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. С. 925–46. Available from: <http://www.femb.ru/feml>.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

Касина Ирина Владимировна. Главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Алексеева Светлана Александровна. Ведущий эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Бердникова Зинаида Евтропиевна. Главный эксперт лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Немировская Татьяна Ивановна. Начальник лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Алехина Александра Сергеевна. Инженер-лаборант лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Адрес для переписки: Касина Ирина Владимировна; Kasina@expmed.ru

Prospects for improving evaluation of live tularemia vaccine quality

I. V. Kasina, S. A. Alekseeva, Z. E. Berdnikova, T. I. Nemirovskaya, A. S. Alekhina

Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation

The article presents prospects for improving the evaluation of live tularemia vaccine (hereinafter — tularemia vaccine) quality in terms of the following parameters: «Identification», «Specific activity (the number of living microbial cells)» and the «Absence of extraneous microorganisms and fungi». The authors investigated the possibility of improving evaluation of tularemia vaccine quality as regards the «Identification» parameter by using a commercial diagnostic test kit — immunochromatographic test system for express detection and identification of tularemia agent («*F. tularensis* ICA test system»). In order to optimize and improve the evaluation of tularemia vaccine quality as regards «Specific activity (the number of living microbial cells)» parameter it is recommended to use a ready-to-use growth medium for cultivation and isolation of tularemia microbe — as an additional culture medium for determination of the number of living microbial cells. It is proposed to improve the methodology of tularemia vaccine quality evaluation as regards the «Absence of foreign microorganisms and fungi» parameter by eliminating the stage of subculturing material in thioglycollate medium for 5–7 days, which is reasonable from economic and practical points of view and also reduces the risk of false positive results.

Key words: *Francisella tularensis*; live tularemia vaccine; identification; specific activity; number of living microbial cells; growth medium for cultivation and isolation of tularemia microbe (FT agar); branch standard sample.

Bibliographic description: Kasina IV, Alekseeva SA, Berdnikova ZE, Nemirovskaya TI, Alekhina AS. Prospects for improving evaluation of live tularemia vaccine quality. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(4): 240–247.

References

1. Kasina IV, Goryaev AA, Rashchepkin LI, Fadeykina OV, Nemirovskaya TI, Ustinnikova OB et al. Certification and shelf-life extension of a new batch of the branch reference standard for live tularemia vaccine's specific activity and immunogenicity. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2015; (4): 32–8 (in Russian).
2. Kasina IV, Raschepkin LI, Goryaev AA, Alekseeva SA, Nemirovskaya TI, Movsesyants AA. Live tularemia vaccine quality assessment according to test results under the mandatory certification. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16(4): 253–9 (in Russian).
3. Movsesyants AA, Mironov AN, Merkulov VA, Borisevich IV. Aims and objectives Testing Center for Quality Expertise of Medical Immunobiological Preparations. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2012; (1): 7–9 (in Russian).
4. Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YuV, Merkulov VA, Shmchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products — new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2016; (2): 38–41 (in Russian).
5. ОФС.3.3.1.0019.15. The tularemia vaccine live. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. 13th ed. V. 3. P. 923–30. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).

6. OFS.1.8.1.0002.15. *Immunobiological medicinal products. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 2. P. 867–79. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).*
7. *Laboratory diagnosis of infectious diseases. A practical guide.* Onishchenko GG, Kutyrev VV, eds. Moscow: «Shiko»; 2013. P. 522–3 (in Russian).
8. Dyatlov IA, Kutyrev VV, Khramov MV. *Nutrient medium for isolation, cultivation and identification of pathogens of especially dangerous infections of bacterial nature.* Moscow; 2012. P. 383–90 (in Russian).
9. Shebalin IA, Mironov AY, Shepelin KA. *causative Agents of especially dangerous bacterial infections. Reference bacteriologist.* Moscow; 2016 (in Russian).
10. Meshcheryakova IS. *Taxonomy, identification and immunological diagnosis of tularemia. Dr. Med. Sci. [authoref. dissertation]* Moscow; 1990 (in Russian).
11. Pozdeev OK. *Medical Microbiology.* Moscow; 2004. P. 392–4 (in Russian).
12. OFS.1.2.4.0003.15. *Sterility. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1. P. 925–46. Available from: <http://www.femb.ru/feml> (in Russian).*

Authors

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

Kasina IV. Chief expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Alekseeva SA. Leading expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Berdnikova ZE. Chief expert of the Laboratory of Bacteriological Culture Media and Cell Cultures of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

Nemirovskaya TI. Head of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.

Alekhina AS. Lab technician of the Laboratory of Bacteriological Culture Media and Cell Cultures of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality.

Contact e-mail: Kasina Irina Vladimirovna; Kasina@expmed.ru