

Исследование защитного действия туберкулезных вакцин в эксперименте

Д. Т. Леви, Н. В. Александрова, Е. В. Лебединская, А. В. Наконечная

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 11.10.2017 г. Принята к публикации 26.10.2017 г.

Проведен ретроспективный анализ данных изучения в эксперименте протективных свойств трех посевных серий туберкулезных вакцин, которые использовались при производстве вакцины БЦЖ и БЦЖ-М с 1984 г. по настоящее время. Показано, что эти серии характеризовались одинаковыми показателями жизнеспособности, что обуславливало их равнозначную иммуногенность. Дополнительное исследование протективных свойств препаратов было проведено на морских свинках, вакцинированных производственными сериями туберкулезных вакцин, содержащими в прививочной дозе различное количество жизнеспособных клеток БЦЖ. Заражение животных через 2,5 месяца после вакцинации вирулентным штаммом *M. tuberculosis* показало высокую иммуногенность туберкулезных вакцин. Установлено, что пятикратное уменьшение дозы вакцины с высоким содержанием жизнеспособных клеток БЦЖ незначительно снижает степень защиты животных от распространенного поражения туберкулезом внутренних органов. Таким образом, полученные данные подтвердили, что проведенное снижение на 30 % верхнего лимита показателя жизнеспособности (жизнеспособных клеток БЦЖ) туберкулезных вакцин БЦЖ и БЦЖ-М с целью уменьшения их реактогенности не влияет на защитные свойства препарата. Важно отметить, что проведенное ранее постмаркетинговое наблюдение за такими усовершенствованными вакцинами показало значительное снижение количества поствакцинальных осложнений у детей.

Ключевые слова: вакцина БЦЖ; осложнения; показатель жизнеспособности; иммуногенность; туберкулез.

Библиографическое описание: Леви ДТ, Александрова НВ, Лебединская ЕВ, Наконечная АВ. Исследование защитного действия туберкулезных вакцин в эксперименте. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2017; 17(4): 253–257.

Вакцинопрофилактика является самым эффективным и экономичным способом борьбы с инфекционными заболеваниями. Эффективность вакцинации зависит от целого ряда факторов, связанных как с препаратом, так и с организмом прививаемого. Эти же факторы оказывают значительное влияние на возникновение осложнений после вакцинации. Значительную роль играет также корректность выполнения техники проведения прививки. Известно, что живые вакцины дают более полноценный эффект, чем инактивированные цельноклеточные или антигенные препараты, но и чаще вызывают осложненную реакцию на введение. До настоящего времени все вакцины против туберкулеза в мире носят название БЦЖ (BCG), что связано с тем, что их готовят из *M. bovis* BCG — штамма, выделенного от коровы, больной туберкулезной бугорчаткой (жемчужная болезнь), аттенуированного А. Кальметом и К. Гереном и названного в их честь. Созданный в 1921 г. французскими учеными аттенуированный штамм БЦЖ был предложен исследователям других стран для производства вакцин против туберкулеза [1]. При изготовлении вакцин БЦЖ производители использовали различную технологию. В результате дочерние штаммы БЦЖ, которые было принято называть субштаммами, отличаются от родительского и различаются между собой по морфологии клеток, антигенному составу, ростовым свойствам, способности вызывать гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), остаточной вирулентности, от которой зависит реактогенность и защитные свойства вакцины [2, 3].

В начале 60 годов прошлого столетия ВОЗ рекомендовала ввести в производство БЦЖ систему посевного

материала (seed-lot system), ограничивающую двенадцатью число пассажей от приготовления посевной серии до выпуска производственной серии вакцины БЦЖ. На основании международных коллаборативных исследований, проведенных в 2008–2012 гг., в которых наша страна (ГИСК им. Л. А. Тарасевича) принимала непосредственное участие, ВОЗ утвердила 4 референс-субштамма для производства вакцины БЦЖ [4].

Согласно данным литературы, на вакцины, приготовленные на основе этих субштаммов, отмечаются различные по характеру и количеству осложнения, что связано, в основном, с остаточной вирулентностью субштамма, которую наряду с количеством жизнеспособных клеток должны учитывать при выборе дозы препарата [5, 6].

Специально запланированное исследование [7] показало, что с увеличением жизнеспособных клеток в препарате (в прививочной дозе) регистрируется пропорционально больше осложнений как после применения вакцины БЦЖ, так и вакцины БЦЖ-М. На серии вакцин, показатели жизнеспособности которых находились в пределах от среднего до нижнего допустимого лимита, было зарегистрировано в 2–4 раза меньше осложнений, чем на серии с показателем жизнеспособности на уровне верхней трети диапазона. Результатом этого исследования явилось усовершенствование профилактического препарата — изменение специфической активности серий вакцин БЦЖ и БЦЖ-М за счет снижения на 30 % количества жизнеспособных клеток БЦЖ в прививочной дозе [8, 9]. Следует подчеркнуть, что это уменьшение числа живых клеток произошло в пределах границ показателя специ-

фической активности (жизнеспособности) препаратов, за счет снижения верхнего лимита. С 2012 г. регламентирован выпуск серий вакцины БЦЖ, содержащих в прививочной дозе от 500 тыс. до 1 млн жизнеспособных клеток БЦЖ (было от 500 тыс. до 1,5 млн). Для вакцины БЦЖ-М первоначально был снижен верхний предел содержания жизнеспособных клеток БЦЖ в прививочной дозе до 625 тыс. (было 750 тыс.), а в последующем несколько изменен также нижний лимит (с 450 тыс. до 375 тыс.).

Несмотря на то, что вносимые изменения не выходят за рамки требований к вакцинам БЦЖ и БЦЖ-М, в данном исследовании проведен анализ результатов экспериментального изучения иммуногенности посевных серий туберкулезных вакцин, стандартность которых подтверждена, и дополнительные экспериментальные исследования иммунизирующей способности вакцин с уменьшенным количеством жизнеспособных клеток БЦЖ.

Цель исследования — оценить в эксперименте на морских свинок иммуногенность препаратов со сниженным количеством жизнеспособных клеток БЦЖ.

Материалы и методы

Материалы

1. *Mycobacterium bovis* BCG субштамм BCG-1 (Russia):
– посевная серия 367 «щ», лиофилизат (1982 г.) 12-дневной культуры 7 генерации посевной серии 359 «ш» (1966 г.) в 1,5 %-ном растворе натрия глутамата моногидрат;
– посевная серия 361 «ш», лиофилизат (1992 г.) 12-дневной культуры 7 генерации посевной серии 352 «ч» (1963 г.) в 1,5 %-ном растворе натрия глутамата моногидрат;
– экспериментальная посевная серия 368 «э», лиофилизат (1992 г.). Для производства вакцины БЦЖ не использовалась;
– посевная серия 368 «щ», лиофилизат (2006 г.) 12-дневной культуры культуры 7 генерации посевной серии 359 «ш» (1966 г.) в 1,5 %-ном растворе натрия глутамата моногидрат.

В каждой посевной серии в 1 мг содержится от 30 до 40 млн жизнеспособных клеток БЦЖ.

2. Вакцина БЦЖ сер. 733 и вакцина БЦЖ-М сер. 732, произведенные филиалом Медгамал ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи из посевной серии 368 «щ».

3. ОСО вакцины туберкулезной (БЦЖ) сухой ОСО 42-28-420 (использован при контроле показателя жизнеспособности).

4. Вирулентный тест-штамм *Mycobacterium tuberculosis* Erdman (700405, ГКПМ ФГБУ «НЦЭСМП»), лиофилизат. Культуру из ампулы высевали на яичную среду (1-я и 2-я генерации), а затем на картофельную среду Павловского (3-я генерация).

5. Питательные среды:

- яичная среда Левенштейна-Иенсена, свежеприготовленная (Приказ Минздрава России № 109 от 21.03.03 г.);

- картофельная среда Павловского (РП 1897357-06–07).
- 6. Животные (однополые): морские свинки массой 250–350 г из питомника филиал Андреевка ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА.

Методы

Определение протективных свойств вакцин

1. Для вакцинации морских свинок использовали препараты вакцины БЦЖ и БЦЖ-М (лиофилизат), которые разводили 0,9 % раствором натрия хлорида до содержания необходимой дозы жизнеспособных клеток БЦЖ в 0,1 мл препарата. Вакцину животным вводили внутрикожно.

2. Через 2,5 месяца после вакцинации животных заражали подкожно культурой третьей генерации *Mycobacterium tuberculosis* Erdman (700405) со среды Павловского. Доза заражения 0,0001 мг в 0,2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. После гибели 2 морских свинок контрольной группы все животные были подвергнуты эвтаназии и обследованы визуально на наличие поражений туберкулезом лимфатических узлов и внутренних органов. Средний индекс поражений, подсчитывали по методу Нахимсон, при котором тотальное поражение селезенки, легких и печени животного принималось за 100 %.

3. Статистическую обработку и оценку полученных в исследованиях данных проводили с использованием параметрических и непараметрических методов статистики [10].

Результаты

В таблице 1 представлены результаты исследования протективных свойств 3 посевных серий вакцины БЦЖ.

Анализ этих данных показал, что в группах животных, вакцинированных тремя сериями посевного материала БЦЖ, средние индексы поражения различались статистически незначимо (31,1; 36,6 и 28,04 соответственно, при $P < 0,95$). Не было найдено статистически значимых различий и в количестве животных в этих группах, имеющих одинаковый индекс поражения ($P < 0,95$). Поражения туберкулезом морских свинок контрольной группы были значительно более выражены ($P > 0,95$). Так, у 11 из 13 (84,6 %) животных контрольной группы на вскрытии выявлен генерализованный туберкулез с индексом поражения 80–100 %. В группах животных, вакцинированных БЦЖ, аналогичные поражения отмечены только у 2 из 19 в первой группе, 3 из 23 — во второй и 3 из 22 — в третьей (10,5; 13,04 и 13,6 % соответственно). Количество вакцинированных животных, у которых туберкулезные поражения ограничены лимфатическими узлами, составляло 5 (26,3 %), 5 (21,7 %), и 9 (40,9 %) соответственно. В контрольной группе не было животных, имеющих туберкулез только регионарных лимфатических узлов; у одной морской свинки отмечены единичные узлы в селезенке; и у одной — выявлены поражения средней тяжести. Средний

Таблица 1. Результат определения на морских свинках протективных свойств 3 посевных серий вакцины БЦЖ

Посевная серия вакцины	Доза вакцины, мг	Доза заражения, мг <i>M. tuberculosis</i> Erdman	Количество морских свинок с индексом поражения				Количество животных в группе	Средний индекс поражения
			0–10	20–30	40–60	80–100		
361 «щ»	0,01	0,0001	5	9	3	2	19	31,1
368 «э»	0,01	0,0001	5	7	8	3	23	36,6
367 «щ»	0,01	0,0001	9	8	2	3	22	28,04
Контроль	—	0,0001	0	1	1	11	13	77,9

индекс поражения морских свинок в контрольной группе составлял 77,9, что статистически значимо выше, чем у вакцинированных животных любой группы (от 28,4 до 36,6). Таким образом, анализ результатов вакцинация морских свинок дозой 0,01 мг вакцины БЦЖ, содержащей 300–400 тыс. жизнеспособных клеток БЦЖ, подтвердил одинаково высокую иммуногенность посевных серий.

В таблице 2 представлены результаты исследования производственных серий вакцины БЦЖ, которые значительно различались между собой по показателю жизнеспособности и по количеству жизнеспособных единиц в прививочной дозе, использованной в опыте. В качестве препарата сравнения выбрана посевная серия вакцины БЦЖ 368 «щ», применяемая при производстве коммерческих серий вакцины с 2009 г. по настоящее время. В 1 мг этой серии содержится 35 ± 5 млн жизнеспособных клеток БЦЖ. Животные, вакцинированные посевной серией 368 «щ» (первая группа) и производственной серией вакцины БЦЖ 733 (третья группа), получили по 0,01 мг препарата, что составило 400 тыс. и 160 тыс. жизнеспособных клеток БЦЖ соответственно. Вакцина БЦЖ-М сер. 732 введена морским свинкам в дозе 0,005 мг. Аналогичную весовую дозу вакцины БЦЖ сер. 733 получили животные четвертой группы. Содержание жизнеспособных клеток в этих дозах составляло 115 тыс. и 80 тыс. соответственно. Анализ данных, полученных при вскрытии животных всех групп, зараженных вирулентным штаммом микобактерий туберкулеза, не выявил различий в поражениях внутренних органов животных, вакцинированных 0,01 мл вакцины БЦЖ сер. 733 и посевной серии. Средние индексы поражения в этих группах были одинаковыми (12,75 и 12,05 соответственно при $P < 0,95$). Вакцинация морских свинок 0,005 мг вакцины БЦЖ-М сер. 732 и уменьшенной вдвое весовой дозой вакцины БЦЖ сер. 733 также характеризовалась практически одинаковыми значениями индексов поражения (17,95 и 17,85 соответственно). Следует особо подчеркнуть отсутствие статистически значимых различий между индексами поражения туберкулезом в этих группах вакцинированных животных и морских свинок, вакцинированных 0,01 мг препаратов ($P < 0,95$). Как и в предыдущем испытании, у основной части (70 %) животных контрольной группы выявлены на вскрытии тотальные поражения (80–100 %) внутренних органов, которых не было ни у одного животного в вакцинированных группах. Основная часть вакцинированных морских свинок (66,7; 53,5; 66,7 и 60 % соответственно) демонстрировала туберкулезные поражения только в регионарных лимфатических узлах. В контрольной группе животные с таким

незначительным поражением отсутствовали. Полученные результаты свидетельствуют, что вакцинация морских свинок препаратами, содержащими 4–5-кратно различающиеся дозы жизнеспособных клеток БЦЖ, в одинаковой степени предотвращает или задерживает развитие туберкулезных поражений у чувствительных к туберкулезу животных.

Обсуждение

Известно, что вакцина БЦЖ вызывает относительный иммунитет против туберкулеза. Она не защищает взрослых от туберкулеза легких, не предупреждает инфицирования микобактериями туберкулеза. Тем не менее, ранняя вакцинация новорожденных позволяет предотвратить тяжелые генерализованные формы заболевания у ребенка и смертность малышей от туберкулеза [11]. Вакцина БЦЖ — живая вакцина, ее защитный эффект определяется остаточной вирулентностью, т.е. способностью размножаться внутриклеточно. Это же свойство вакцины приводит к неизбежности поствакцинальных осложнений, которые связаны, прежде всего, с реакцией регионарных лимфатических узлов, в результате которой происходит их увеличение. Увеличение размеров лимфатических узлов до 1 см и более считается осложнением — лимфаденитом (в большинстве стран учитывают только гнойные лимфадениты). Частоту лимфаденитов в результате вакцинации принято считать «маркером» реактогенности вакцины [1]. Известно, что «сильные» вакцины (вакцины из более реактогенных субштаммов БЦЖ) дают больший защитный эффект, но и больше лимфаденитов. Количество жизнеспособных клеток БЦЖ в препарате также влияет на реактогенность вакцины. С увеличением показателя жизнеспособности препарата увеличивается количество осложнений и нежелательных реакций. Во многих странах с целью снижения частоты осложнений для вакцинации новорожденных и детей младшего возраста применяется так называемая педиатрическая вакцина БЦЖ, которая является 1/2 или 1/4 обычной дозы вакцины БЦЖ. Так широко известная датская вакцина БЦЖ (наряду с болгарской вакциной используется по линии ЮНИСЕФ) содержит во флаконе 0,75 мг клеток БЦЖ, при этом в 1 мг препарата содержится от 2 до 8 млн жизнеспособных клеток БЦЖ. Вакцину ресуспендируют в 1,0 мл растворителя и вводят детям внутрикожно по 0,05 мл, т.е. прививочная доза содержит от 75000 до 300000 жизнеспособных клеток БЦЖ. В нашей стране в 80-х годах прошлого столетия была создана и внедрена в практику вакцина БЦЖ-М. Вакцина была

Таблица 2. Результаты определения протективных свойств туберкулезных вакцин в зависимости от количества жизнеспособных БЦЖ в дозе

№ группы	Препарат	Доза вакцины		Заражение	Количество животных с поражением лимфоузлов и внутренних органов			Индекс поражения
		мг	жизнеспособные клетки БЦЖ		Легкие	Средней тяжести	Тяжелые	
1	БЦЖ 368 «щ» (посевная серия)	0,01	400 тыс.	<i>M. tuberculosis</i> Erdman	12	6	0	12,75
2	БЦЖ-М сер. 732 (Москва)	0,005	115 тыс.		8	7	0	17,97
3	БЦЖ сер. 733 (Москва)	0,01	160 тыс.		12	6	0	12,05
4	БЦЖ сер. 733 (Москва)	0,005	80 тыс.		12	8	0	17,85
5	Контроль	0,1 мл	—		0	6	14	73,5

создана с целью снижения осложнений на вакцинацию БЦЖ в 1985 г. совместно предприятием Медгамал ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи и ГИСК им. Л. А. Тарасевича. Препарат содержал в два раза меньшую по весу прививочную дозу при незначительном снижении количества жизнеспособных клеток БЦЖ [12]. Вакцина БЦЖ-М предназначалась для вакцинации новорожденных в регионах с низкой заболеваемостью туберкулезом, а также для детей, имеющих противопоказания к вакцинации БЦЖ. С 1990 г. показания к применению вакцины БЦЖ-М значительно расширены и она широко применяется в стране в регионах с заболеваемостью менее 80 на 100 тысяч. Постмаркетинговые исследования выявили, что снижение количества поствакцинальных осложнений на вакцину БЦЖ-М меньше, чем было показано при клинических исследованиях препарата. Кроме того установлено, около 30 % осложнений связаны с состоянием организма ребенка, около 30 % осложнений является результатом нарушения техники прививки и только 1/3 осложнений связаны с вакциной БЦЖ или БЦЖ-М [7, 13]. Тем не менее, задача уменьшить реактогенность прививочного препарата оставалась актуальной. Ее решение привело к снижению верхнего лимита жизнеспособных клеток в прививочной дозе. Как показали постмаркетинговые исследования, применение таких вакцин приводит к значительному снижению реактогенности препаратов и тем самым к снижению количества поствакцинальных осложнений [7]. Изменения в технологии приготовления препарата или его основных характеристик требует постоянного мониторинга его основных качеств. В рамках такого мониторинга проведено экспериментальное исследование протективных свойств туберкулезных вакцин. Это исследование вакцин БЦЖ/БЦЖ-М на чувствительной модели (морских свинок) является важным этапом изучения вакцинного препарата. Изучение протективных свойств 4 посевных серий, показало, что посевные серии, изготовленные для производства вакцин БЦЖ и БЦЖ-М в различные годы, обладают выраженной иммуногенностью. Протективные свойства используемой в настоящее время посевной серии 368 «щ» исследованы в одном эксперименте с сериями, в которых показатель жизнеспособности находится в пределах границ, сниженных в 2012 г. [8, 9]. Результаты изучения иммуногенности этих препаратов с достоверностью позволяют заключить, что снижение в рамках существующих требований верхнего лимита жизнеспособных клеток БЦЖ в вакцинах не повлияло на протективные свойства препаратов. Эти резуль-

таты подтверждают целесообразность дальнейшего применения усовершенствованных вакцин БЦЖ и БЦЖ-М в практике здравоохранения.

Литература

1. Аксенова ВА, Леви ДТ. Туберкулезные вакцины. В кн.: Зверев ВВ, Семенов БВ, Хаитов РМ, ред. Вакцины и вакцинация. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. С. 371–411.
2. Behr MA. BCG-different strains, different vaccines? *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2(2): 86–92.
3. Ritz N, Hanekom WA, Robins-Browne R, Britton WJ, Curtis N. Influence of BCG vaccine strain on the immune response and protection against tuberculosis. *FEMS Microbiol. Rev.* 2008; 32(5): 821–41.
4. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of BCG vaccines. Replacement of Annex 2 of WHO Technical Report Series, No. 745, and Amendment to Annex 12 of WHO Technical Report Series, No. 771. WHO Technical Report Series No. 979, 2013.
5. Ritz N, Dutta B, Donath S, Casalaz D, Connell TG, Tebruegge M, et al. The influence of bacille Calmette-Guérin vaccine Strain on the immune response against tuberculosis: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 185: 213–22.
6. Аксенова ВА, Леви ДТ, Закирова НВ. Современные проблемы вакцинопрофилактики туберкулеза у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 1999; 44(1): 3–6.
7. Леви ДТ, Александрова НВ, Севостьянова ТА, Подлипавова ИВ, Аксенова ВА, Рухамина МЛ. Осложнения после вакцинации против туберкулеза. *Туберкулез и болезни легких* 2013; (9): 10–5.
8. Вакцина туберкулезная (БЦЖ), лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения 50 мкг/доза. Р N001969/01-310308, Изменения № 4 от 18.05.2012 филиал «Медгамал» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи».
9. Вакцина туберкулезная для щадящей первичной иммунизации (БЦЖ-М), лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения, 25 мкг/доза. Р N001972/01-300512, Изменения № 4 от 30.05.2012 филиал «Медгамал» ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи».
10. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М., Практика, 1998.
11. Safety update of BCG vaccine. WHO. *Weekly epidemiological record.* № 28, 2017, 92, 396–398.
12. Яблокова ТБ, Писаренко НН, Леви ДТ, Казачкова ТЕ, Нестеренко ЛА. Экспериментальное изучение вакцины БЦЖ-М — препарата с уменьшенной антигенной нагрузкой. *Пробл. туберкул.* 1985; (6): 52–62.
13. Леви ДТ, Александрова НВ. Вакцинопрофилактика туберкулеза. *БИОпрепараты, профилактика, диагностика, лечение* 2015; (2): 4–8.

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.

Леви Диана Тимофеевна. Главный эксперт управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Александрова Наталья Владимировна. Главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Лебединская Елена Владимировна. Ведущий научный сотрудник отдела редакционно-издательской деятельности и защиты интеллектуальной собственности Центра планирования и координации НИР, канд. биол. наук.

Наконечная Алла Витальевна. Эксперт 2 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Адрес для переписки: Леви Диана Тимофеевна; Levi@mail.ru

Experimental study of the protective effect of tuberculosis vaccines

D. T. Levy, N. V. Aleksandrova, E. V. Lebedinskaya, A. V. Nakonechnaya

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 the results of a retrospective analysis of experimental data on the protective properties of the three seed lots of tuberculosis vaccines which have been used in the production of BCG and BCG-M vaccines since 1984. It was shown that these seed lots have comparable characteristics of viability, which accounts for their equivalent immunogenicity. An additional study of the protective properties of the preparations was carried out in guinea pigs vaccinated with production batches of tuberculosis vaccines containing a different amount of viable BCG cells in the vaccine dose. Exposure of animals to a virulent strain of *M. tuberculosis* 2.5 months after the vaccination demonstrated high immunogenicity of the tuberculosis vaccines. It was established that a fivefold reduction in the dose of a vaccine with a high content of viable BCG cells only slightly reduces the degree of protection of the animals from disseminated tuberculosis. Thus, the data obtained confirmed that the 30 % reduction of the upper limit of the viability (viable BCG) of the BCG and BCG-M tuberculosis vaccines aimed at reducing their reactogenicity does not affect the protective properties of the preparation. It is important to note that previous post-marketing surveillance of such improved vaccines has shown a significant reduction in the number of post-vaccination complications in children.

Key words: BCG vaccine; complications; viability; immunogenicity; tuberculosis.

For citation: Levy DT, Aleksandrova NV, Lebedinskaya EV, Nakonechnaya AV. Experimental study of the protective effect of tuberculosis vaccines. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(4): 253–257.

References

1. Aksenova VA, Levi DT. Tuberculosis vaccines. In: Zverev VV, Semenov BF, Khaitov RM, eds. *Vaccines and vaccination. National guidance*. M.: GEOTAR-Media; 2011. P. 371–411 (in Russian).
2. Behr MA. BCG-different strains, different vaccines? *Lancet Infect. Dis.* 2002; 2 (2): 86–92.
3. Ritz N, Hanekom WA, Robins-Browne R, Britton WJ, Curtis N. Influence of BCG vaccine strain on the immune response and protection against tuberculosis. *FEMS Microbiol. Rev.* 2008; 32 (5): 821–41.
4. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of BCG vaccines. Replacement of Annex 2 of WHO Technical Report Series, No. 745, and Amendment to Annex 12 of WHO Technical Report Series, No. 771. WHO Technical Report Series No. 979, 2013.
5. Ritz N, Dutta B, Donath S, Casalaz D, Connell TG, Tebruegge M, et al. The influence of bacille Calmette-Guerin vaccine Strain on the immune response against tuberculosis: a randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012; 185: 213–22.
6. Aksenova VA, Levi DT, Zakirova NR. Modern problems of vaccinoprophylaxis of tuberculosis in children. *Ros. vestn. perinatologii, pediatrii* 1999; 44 (1): 3–6 (in Russian).
7. Levi DT, Aleksandrova NV, Sevostyanova TA, Podlipaeva IV, Aksenova VA, Rukhamina ML. Complications after vaccination against tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases* 2013; (9): 10–5 (in Russian).
8. Tuberculosis vaccine (BCG), lyophilizate for the preparation of a suspension for intradermal administration of 50 µg/dose. P N001969/01–310308. Changes № 4 from 18.05.2012 the branch of «Medgamal» FGBU «FNIISEM im. N. F. Gamaleyi» (in Russian).
9. Tuberculosis vaccine for gentle primary immunization (BCG-M), lyophilizate for the preparation of a suspension for intradermal administration, 25 µg/dose. P N001972/01–300512. Changes № 4 from 30.05.2012 the branch of «Medgamal» FGBU «FNIISEM im. N. F. Gamaleyi» (in Russian).
10. Glants S. *Medical and biological statistics*. Moscow: Praktika, 1998 (in Russian).
11. Safety update of BCG vaccine. WHO. *Weekly epidemiological record* 2017; 92 (28): 396–8.
12. Yablokova TB, Pisarenko NN, Levy DT, Kazachkova TE, Nesterenko LA. Experimental study of BCG-M vaccine with a reduced antigen load. *Tuberculosis and Lung Diseases* 1985; (6): 52–62 (in Russian).
13. Levi DT, Aleksandrova NV. Vaccinations for the prevention of tuberculosis. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2015; (2): 4–8 (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.

Levi DT. Chief expert of the Division for Expert Evaluation of Antibacterial MIBPs of the Centre for Evaluation and Control of MIBPs. Doctor of Medical Sciences, professor.

Aleksandrova NV. Chief expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of MIBPs' Quality. Candidate of Medical Sciences.

Lebedinskaya EV. Leading researcher associate of the Department for Editorial and Publishing Activities and Intellectual Property Protection of the Centre for Planning and Coordination of Scientific Activities. Candidate of Biological Sciences.

Nakonechnaya AV. 2nd professional category expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of MIBPs' Quality.

Contact e-mail: Levi Diana Timofeevna; Levi@expmed.ru