

Перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность»

И. В. Касина*, С. А. Алексеева, Т. И. Немировская

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

Профилактическая иммунизация против бруцеллеза входит в Национальный календарь прививок по эпидемическим показаниям. Для иммунизации людей применяется живая вакцина, представляющая собой лиофилизированную взвесь вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 BA в стабилизирующей среде. В статье представлены результаты анализа качества 9 серий вакцины бруцеллезной живой, поступивших в Испытательный центр экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России для оценки соответствия препарата нормативным требованиям, а также анализ паспортных данных предприятия-производителя на эти серии. Необходимость проведения объективной экспертизы качества вакцины бруцеллезной, а также актуальность ее совершенствования не вызывают сомнений. **Цель работы:** оценка перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз). **Материалы и методы:** специфическую активность (концентрацию микробных клеток, количество живых микробных клеток) определяли визуальным и микробиологическим методами на образцах ОСО 42-28-396-2018 вакцины бруцеллезной серии 6 и на бактериальной взвеси вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 BA, полученного из АО «НПО «Микроген» в 2016 г. Количество накожных доз в вакцине бруцеллезной определяли расчетным методом. Статистическая обработка результатов была выполнена с помощью программы Microsoft Excel. **Результаты:** установлено несоответствие коэффициента концентрации бруцелл $1,7 \times 10^9$ м.к./мл по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ фактическим данным, полученным в результате проведенных исследований. Предварительный коэффициент концентрации бруцеллезного микроба по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ может достигать $3,0 \times 10^9$ м.к./мл. **Выводы:** полученные результаты могут послужить основанием для внесения изменения в паспорт и инструкцию по применению ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ по коэффициенту концентрации бруцеллезного микроба и в требования нормативной документации на вакцину бруцеллезную по показателю качества «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз). Для внесения соответствующих изменений по концентрации бруцелл, эквивалентной 10 МЕ, в паспорт и инструкцию по применению на ОСО мутности бактериальных взвесей (ОСО 42-28-85П) необходимо провести дополнительные испытания на других видах бруцелл.

Ключевые слова: вакцина бруцеллезная живая; вакцинный штамм *Brucella abortus*; специфическая активность; концентрация микробных клеток; количество живых микробных клеток; колониеобразующая единица (КОЕ); количество накожных доз; отраслевой стандартный образец (ОСО)

Для цитирования: Касина ИВ, Алексеева СА, Немировская ТИ. Перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность». *БИО-препараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(2):126–135. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-126-135>

Контактное лицо: Касина Ирина Владимировна; kasina@expmed.ru

Prospects for Improving Quality Evaluation of the Live Brucellosis Vaccine in Terms of Specific Activity

I. V. Kasina*, S. A. Alekseeva, T. I. Nemirovskaya

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

Prophylactic immunisation against brucellosis is part of the National Immunisation Schedule for Epidemic Settings. The immunisation is performed with a live vaccine—a lyophilized suspension of the *Brucella abortus* strain 19 BA in a stabilizing medium. The paper presents the results of quality evaluation of 9 batches of live brucellosis vaccine that were submitted to the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation for assessment of the product's compliance with the established specifications. The paper also presents the results of evaluation of the passport information provided by the manufacturer for these batches. There is no doubt about the need for objective quality evaluation of brucellosis vaccines as well as about the significance of its improvement. **The aim of study** was to assess the prospects for improving

quality evaluation of live brucellosis vaccines in terms of Specific activity (concentration of microbial cells, number of living microbial cells, number of cutaneous doses). **Materials and methods:** specific activity (concentration of microbial cells and number of living microbial cells) was determined by visual and microbiological methods using the industrial reference standard of brucellosis vaccine OSO 42-28-396-2018, batch 6 and the bacterial suspension of the *Brucella abortus* strain 19 BA acquired from the joint stock company Scientific and Production Association "Microgen" in 2016. The number of cutaneous doses in the brucellosis vaccine was determined by the calculation method. Statistical processing of the results was performed using Microsoft Excel. **Results:** there was a mismatch between the brucella concentration coefficient of 1.7×10^9 microbial cells/mL determined by comparison with the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU and the actual concentration of microbial cells obtained in the study. According to preliminary results, the brucella concentration coefficient corresponding to the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU can reach 3.0×10^9 microbial cells/mL. **Conclusions:** the obtained results can serve as a basis for amending the data on the brucella concentration coefficient in the Passport and the Instructions for use of the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU, as well as the Specific activity section (concentration of microbial cells, number of living microbial cells, number of cutaneous doses) of the established specifications for the brucellosis vaccine. Before amending the information on the brucella concentration corresponding to 10 IU in the Passport and the Instructions for use of the reference standard of bacterial suspension turbidity (OSO 42-28-85P), additional studies should be performed with other types of brucella.

Key words: live brucellosis vaccine; *Brucella abortus* vaccine strain; specific activity; concentration of microbial cells; number of living microbial cells; colony forming unit (CFU); number of cutaneous doses; industrial reference standard

For citation: Kasina IV, Alekseeva SA, Nemirovskaya TI. Prospects for improving quality evaluation of the live brucellosis vaccine in terms of Specific activity. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(2):126–135. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-2-126-135>

Corresponding author: Irina V. Kasina; kasina@expmed.ru

Эпидемическая обстановка по бруцеллезу на территории некоторых субъектов Российской Федерации продолжает оставаться неблагополучной и определяется наличием заболеваний среди мелкого и крупного рогатого скота, являющихся основными источниками инфекции для людей [1–3]. В многолетней динамике заболеваемость впервые выявленным бруцеллезом среди людей в Российской Федерации за последние 40 лет стабильно составляет 0,2–0,7% на 100 тыс. населения. Например, в 2018 г. в Российской Федерации зарегистрирован 291 случай бруцеллеза у людей, а в 2019 г. — 397 случаев, что сопоставимо со средними многолетними значениями. Наиболее неблагополучными территориями по бруцеллезу являются Северо-Кавказский, Южный и Сибирский федеральные округа¹. Профилактическая иммунизация против бруцеллеза входит в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям и проводится в соответствии с действующими нормативными актами в области иммунопрофилактики. Вакцинация проводится в очагах козье-овечьего типа следующим лицам, достигшим 18 лет: животноводов, ветеринарным работникам, зоотехникам, а также работникам бактериологических лабораторий, работающим с живыми культурами. Для иммунизации людей против бруцеллеза применяется живая вакцина, представляющая собой лиофилизированную взвесь вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 BA в стабилизирующей среде² [4, 5]. Необходимость проведения объективной экспертизы качества вакцины бруцеллезной, а также актуальность ее совершенствования не вызывают сомнений [6, 7].

Контроль качества вакцины бруцеллезной проводится с целью подтверждения соответствия показателей качества требованиям нормативной документации (НД)³. Вакцина исследуется

по физико-химическим показателям, таким как «рН», «Потеря в массе при высушивании», «Средняя масса и однородность по массе»; биологическим показателям — «Специфическая безопасность», «Иммуногенность» и микробиологическим показателям — «Подлинность», «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов», «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз), «Термостабильность».

Цель работы — оценка перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз).

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- анализ результатов испытаний образцов вакцины бруцеллезной живой по показателям качества «Специфическая активность» с целью определения в вакцине общей концентрации, процента живых микробных клеток вакцинного штамма *B. abortus* 19-BA, а также количества накожных доз;
- определение оптимальной концентрации вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA в приготовленных микробных взвесах и в вакцине бруцеллезной, эквивалентной 10 МЕ ОСО мутности бактериальных взвесей (ОСО 42-28-85П) соответствующего года выпуска.

Материалы и методы

Материалы

- ОСО вакцины бруцеллезной живой (ОСО 42-28-396-2018), серия 6;
- производственный вакцинный штамм *B. abortus* 19 BA (дата лиофилизации — декабрь 2015 г.). Передан АО «НПО «Микроген»

¹ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году». Роспотребнадзор; 2019. https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf

² СП 3.1.7.2613-10 Профилактика бруцеллеза (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 26.04.2010 № 39).

³ Нормативная документация Р N003612/01-251217 Вакцина бруцеллезная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения.

Фармакопейная статья 3.3.1.0011.15 Вакцина бруцеллезная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов III–IV групп ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в 2016 г.;

- ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ (ОСО 42-28-85П) соответствующего года выпуска;

- мясо-пептонный агар (МПА) с 0,5% глюкозы (рН 7,4) лабораторного приготовления;

- питательная среда для выделения и культивирования бруцелл сухая (Эритрит агар) серии МК040218, производства филиала АО «НПО «Микроген» в г. Махачкале НПО «Питательные среды» по ТУ 9398-046-14237183-07 (регистрационное удостоверение № ФСР 2008/02098). Используемые питательные среды предусмотрены требованиями НД.

Все препараты применены в течение срока их годности.

В проведенном исследовании использованы результаты испытаний образцов серий бруцеллезной вакцины, поступивших в ИЦЭК МИБП для оценки соответствия препарата нормативным требованиям, и паспортные данные предприятия-производителя на эти серии.

Методы

Специфическую активность (концентрацию микробных клеток) определяли визуальным методом по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ (ОСО 42-28-85П) соответствующего года выпуска. Общую концентрацию (ОК) бруцелл рассчитывали по формуле (1), указанной в НД и в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд.⁴ с использованием коэффициента концентрации бруцелл:

$$OK = (0,1 + n) \times 10 \times 1,7 \times 10^9, \quad (1)$$

где ОК — общая концентрация микробных клеток в 1 мл (м.к./мл); 0,1 — объем растворенной вакцины, мл; n — объем 0,9% раствора натрия хлорида, взятый для разведения пробы до ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, мл; 10 — постоянная величина (пересчет в 1 мл вакцины); $1,7 \times 10^9$ — концентрация микробных клеток в 1 мл для бруцелл, эквивалентная 10 МЕ.

Специфическую активность (количество живых микробных клеток) определяли микробиологическим методом (посев на питательные среды).

Тестируемые образцы, в которых определяли концентрацию микробных клеток, десятикратно разводили в 0,9% растворе натрия хлорида до концентрации 10^{-8} (условно посевная доза составляет десятки микробных клеток) и 10^{-9} (условно посевная доза составляет единицы микробных клеток) и высевали по 0,1 мл на 3 чашки Петри с питательным агаром. Посевы инкубировали в течение 5 сут при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

По окончании инкубации подсчитывали количество выросших колоний и вычисляли среднее количество для каждого разведения. Определяли среднее арифметическое из 2 разведений, рассчитывали количество живых бруцелл, содержащихся в 1 мл вакцины. Процентное содержание живых микробных клеток⁵ вычисляли для каждого образца вакцины, принимая за 100% число микробных клеток, исходя из показателя общей концентрации микробных клеток для данного образца по формуле (2):

$$\text{Процентное содержание живых м.к.} = \frac{BK}{OK} \times 100\%, \quad (2)$$

где БК — количество живых микробных клеток в 1 мл; ОК — общая концентрация микробных клеток.

Количество накожных доз определяли расчетным методом: полученное количество живых микробных клеток в ампуле делится на 10^{10} (количество живых микробных клеток в одной дозе)⁶.

Приготовление микробной взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 ВА проводили по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ разными операторами и в разное время.

Для получения суспензии *B. abortus* 19 ВА в количестве условно 100 и 10 м.к. готовили бактериальную взвесь штамма по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ. Так как коэффициент концентрации бруцелл по ОСО мутности 10 МЕ составляет $1,7 \times 10^9$ м.к./мл, взвесь предварительно разводили в 0,9% растворе натрия хлорида до концентрации $1,0 \times 10^9$ м.к./мл в 1,7 раза ($1 + 0,7$). Затем проводили десятикратные разведения до 10^{-6} (1000 м.к.) и 10^{-7} (100 м.к.) и высевали по 0,1 мл на 3 чашки Петри с питательным агаром (посевная доза составила условно 100 и 10 м.к.).

Исследование бактериальной взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 ВА по определению в ней количества живых микробных клеток в различных концентрациях проводили микробиологическим методом (метод посева на питательные среды) разными операторами в разное время. Для получения суспензии *B. abortus* 19 ВА в количестве 100 и 10 м.к. из разведений с шагом 0,5 (1,5; 2; 2,5; 3; 3,5) готовили взвесь штамма по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ и соответственно разводили ($1 + 0,5$; $1 + 1$; $1 + 1,5$; $1 + 2$; $1 + 2,5$). Затем проводили десятикратные разведения до условных 1000 и 100 м.к. и высевали на чашки Петри с питательным агаром (посевная доза условно составила 100 и 10 м.к.).

Проведен статистический анализ с использованием однофакторного дисперсионного анализа для группы разведений и с помощью критерия Стьюдента для попарного сравнения разведений. С помощью программы Microsoft Excel проведен дисперсионный анализ статистической значимости отличий исследованных разведений.

Результаты и обсуждение

Показатель качества «Специфическая активность» вакцин бруцеллезной живой, как и для ряда других живых бактериальных вакцин, оценивается по общей концентрации и количеству живых микробных клеток производственного вакцинного штамма. По результатам оценки качества данного показателя, то есть по фактическому содержанию живых микробных клеток, определяется количество прививочных доз в ампуле.

Общая концентрация микробных клеток в живой бруцеллезной вакцине, содержащей как живые, так и неживые микробные клетки, определяется визуально по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ и затем рассчитывается по формуле с использованием коэффициента концентрации бруцелл ($1,7 \times 10^9$ м.к./мл). В соответствии с НД в вакцине должно содержаться от 4×10^{10} до 10×10^{10} м.к./мл, при этом содержание живых микробных клеток должно составлять не менее 60%.

Нами проведен анализ результатов испытаний 9 серий вакцины бруцеллезной живой разных лет выпуска (с 2012 по 2020 г.) по паспортным данным предприятия-производителя и в Испытательном центре экспертизы качества МИБП (ИЦЭК МИБП) ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России по показателям качества «Специфическая активность» (концентрация микроб-

⁴ Общая фармакопейная статья 1.7.2.0008.15 Определение концентрации микробных клеток. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

⁵ Фармакопейная статья 3.3.1.0011.15 Вакцина бруцеллезная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и на кожного скарификационного нанесения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁶ Там же.

ных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз).

При контроле вакцины бруцеллезной живой на предприятии-производителе общая концентрация микробных клеток в 1 мл по всем сериям составила $(7,1 \pm 0,8) \times 10^{10}$, из них количество живых микробных клеток — $(9,3 \pm 1,1) \times 10^{10}$, т. е. условно высевали 71 и 7 микробных клеток, а фактически выросло на питательной среде — 93 и 9 КОЕ (табл. 1). Соответственно согласно расчету количество живых микробных клеток в вакцине составило 132 $\pm$ 19% от общей концентрации. Также из анализа результатов испытаний бруцеллезной вакцины в ИЦЭК МИБП (табл. 1) следует, что общая концентрация микробных клеток в 1 мл составила $(7,2 \pm 0,6) \times 10^{10}$, из них количество живых микробных клеток — $(7,8 \pm 1,1) \times 10^{10}$, т. е. посевные дозы по расчетному количеству содержали 72 и 7 микробных клеток, а фактически выросло на питательной среде — 78 и 8 КОЕ. В процентном содержании количество КОЕ составило $110 \pm 18\%$ от общей концентрации.

Анализ результатов испытаний вакцины на предприятии-производителе и в ИЦЭК МИБП показал, что полученное при посеве количество живых микробных клеток в образцах вакцины достигало 100% или значительно превышало общую концентрацию микробных клеток, определенную по ОСО мутности 10 МЕ. Результаты противоречат как математическим, так и биологическим принципам.

Важно отметить, что количество прививочных доз в вакцине, а также иммунизирующая доза для лабораторных животных при испытании по показателю «Иммуногенность» определяется из фактического содержания живых микробных клеток в ампуле. В связи с этим установленное количество прививочных доз в вакцине всегда соответствовало требованиям НД (табл. 1) и было в пределах от 4 до 10 доз в ампуле.

При испытании жизнеспособности вакцины проводится контроль чувствительности используемых питательных сред. При посеве 10 м.к. из взвеси штамма *B. abortus* 19 BA, приготовленной по ОСО мутности 10 МЕ, должен наблюдаться рост единичных колоний. В результате контроля чувствительности питательных сред (табл. 2) было выявлено несоответствие количества выросших колоний вакцинного штамма из посевной дозы. При посеве условно 10 м.к. штамма *B. abortus* 19 BA наблюдался рост на плотной питательной среде в количестве 19 ± 3 КОЕ.

Таким образом, из анализа результатов экспертизы качества вакцины и контроля чувствительности питательных сред следует, что, по нашим предварительным данным, коэффициент концентрации бруцелл не соответствует заявленной в инструкции по применению на ОСО мутности 10 МЕ концентрации $1,7 \times 10^9$ м.к./мл.

Для подтверждения полученных результатов нами были проведены дополнительные исследования посевов бактериальной взвеси вакцинного штамма, приготовленной по ОСО мутности 10 МЕ, разными операторами и в разное время (табл. 3). Установлено, что фактический рост бруцелл значительно превышал расчетную посевную дозу. Так, при посеве условно 10 м.к. на плотной питательной среде было выявлено 19 ± 5 КОЕ, при посеве 100 м.к. — 172 ± 34 КОЕ. Полученные результаты подтвердили несоответствие коэффициента концентрации бруцелл по ОСО мутности 10 МЕ значению $1,7 \times 10^9$ м.к./мл.

Результаты исследований стали основанием для определения оптимальной концентрации бруцелл, соответствующей ОСО мутности 10 МЕ. Для этого были проведены посеvy вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA в количестве условных 100 м.к. из бактериальной взвеси, приготовленной по ОСО мутности и разведенной в 1,5; 2; 2,5; 3 и 3,5 раза (с шагом 0,5). Наиболее близким к посевной дозе 100 м.к. установлено значение 91 ± 22 КОЕ (табл. 4), которое соответствует предваритель-

ному разведению в 2,5 раза ($1 + 1,5$). Однако бактериальная взвесь содержит как живые, так и неживые микробные клетки. Поэтому концентрация микробной взвеси бруцелл, оптимально соответствующая количеству живых микробных клеток из посевной дозы, была получена при разведении микробной взвеси в 3 раза. При посеве вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA из бактериальной взвеси, содержащей условно 100 м.к., наблюдался рост, соответствующий значению 65 ± 13 КОЕ.

Для выбора разведения, которое могло бы служить предполагаемым коэффициентом концентрации бруцелл, соответствующего ОСО мутности 10 МЕ, провели оценку статистической значимости различий средних значений выросших колоний. Статистический анализ был проведен с использованием однофакторного дисперсионного анализа для группы разведений и с помощью критерия Стьюдента для попарного сравнения разведений (табл. 4, 5). Проведенный с помощью программы Microsoft Excel дисперсионный анализ статистической значимости отличий исследованных разведений показал, что для групп разведений в 1,5, 2 и 2,5 раза различия полученных средних значений КОЕ (143 ± 32 ; 116 ± 23 ; 91 ± 22) статистически незначимы ($p = 0,057$), так как значение критерия $F_{расч}$, равное 3,98, меньше, чем $F_{кр}$, равное 4,26. Далее провели попарный анализ разведения 3 в сравнении с разведениями 1,5; 2; 2,5 и 3,5, а также разведения 3,5 с разведениями 1,5; 2; 2,5 и 3 (табл. 4, 5). Различия средних значений КОЕ (65 ± 13 и 44 ± 10), полученных при высеве из разведений 2,5 и 3 соответственно, оказались статистически незначимы. Статистически значимо отличается от остального среднего значения 44 ± 10 КОЕ, полученного при посеве разведения в 3,5 раза.

Таким образом, необходимое разведение может находиться в диапазоне от 1,5- до 3-кратного первоначального разведения. Дальнейшие исследования проводили с максимальным первоначальным разведением в 3 раза.

Для подтверждения предполагаемого коэффициента концентрации бруцелл по ОСО мутности 10 МЕ 3×10^9 м.к./мл нами были проведены дополнительные посеvy штамма *B. abortus* 19 BA в количестве условно 10 и 100 м.к. из бактериальной взвеси, приготовленной по ОСО мутности 10 МЕ и разведенной в 3 раза, разными операторами и в разные дни (табл. 6). При посеве условных 10 м.к. вакцинного штамма наблюдался рост на питательной среде в количестве 8 ± 2 КОЕ, а при посеве 100 м.к. — 80 ± 17 КОЕ.

Поскольку метод определения концентрации микробных клеток визуальный, зависит от индивидуальных особенностей оператора, соответственно и результаты несколько разнятся. Тем не менее анализ полученных результатов показал, что количество выросших колоний, выявленных каждым оператором, не превышают посевную дозу.

Также для подтверждения предварительной оптимальной концентрации бруцелл по ОСО мутности 10 МЕ, эквивалентной 3×10^9 м.к./мл, были проведены посеvy 20 образцов ОСО вакцины бруцеллезной живой (табл. 7).

При сравнительном посеве условных 10 и 100 м.к. из бактериальной взвеси вакцины, приготовленной по ОСО мутности 10 МЕ и эквивалентной концентрации бруцелл $1,7 \times 10^9$ м.к./мл, выросло на питательной среде соответственно 13 ± 4 и 118 ± 29 КОЕ вакцинного штамма. Из взвеси, приготовленной по ОСО мутности 10 МЕ и эквивалентной предполагаемой нами концентрации бруцелл 3×10^9 м.к./мл, в среднем выявлен рост, соответствующий значениям 7 ± 2 и 72 ± 11 КОЕ. Данные результаты показали, что оптимальное соотношение выросших колоний от посевной дозы получено из взвеси, эквивалентной по ОСО мутности 10 МЕ с коэффициентом бруцелл 3×10^9 м.к./мл. Таким образом, наши предварительные результаты показывают, что концентрация

Таблица 1. Результаты испытания вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность» (общая концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз) на производстве (данные паспорта) и в ИЦЭК МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России с 2012 по 2020 г.

Table 1. Results of specific activity testing (total concentration of microbial cells, number of living microbial cells, number of cutaneous doses) of the live brucellosis vaccine during production (passport information) and by the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation (TCEMPQ) from 2012 to 2020

Период испытания Time period	Место испытания Facility	Общая концентрация м.к./мл по ОСО мутности бак- териальных взвесей 10 ME Total concentration, micro- bial cells/mL, according to the reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU	Количество живых микробных клеток Number of living microbial cells	Процент живых микробных клеток Percent of living microbial cells	Коли- чество накожных доз Number of cutane- ous doses
2012	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$7,2 \times 10^{10}$	$9,9 \times 10^{10}$	137	10
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$8,1 \times 10^{10}$	$7,9 \times 10^{10}$	98	8
2013	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$7,6 \times 10^{10}$	$10,4 \times 10^{10}$	137	10
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$7,6 \times 10^{10}$	$7,4 \times 10^{10}$	98	7
2015	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$7,4 \times 10^{10}$	$7,0 \times 10^{10}$	95	7
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$7,2 \times 10^{10}$	$7,0 \times 10^{10}$	98	7
2016	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$8,0 \times 10^{10}$	$9,1 \times 10^{10}$	113	9
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$8,0 \times 10^{10}$	$8,0 \times 10^{10}$	100	8
2016	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$8,0 \times 10^{10}$	$9,0 \times 10^{10}$	112	9
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$6,8 \times 10^{10}$	$9,3 \times 10^{10}$	144	9
2017	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$5,5 \times 10^{10}$	$8,3 \times 10^{10}$	151	8
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$6,6 \times 10^{10}$	$7,5 \times 10^{10}$	113	8
2018	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$7,0 \times 10^{10}$	$10,0 \times 10^{10}$	143	10
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$7,0 \times 10^{10}$	$6,4 \times 10^{10}$	91	6
2019	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$6,4 \times 10^{10}$	$9,8 \times 10^{10}$	153	10
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$6,7 \times 10^{10}$	$7,4 \times 10^{10}$	111	7
2020	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$6,9 \times 10^{10}$	$10,2 \times 10^{10}$	148	10
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$7,0 \times 10^{10}$	$9,7 \times 10^{10}$	139	10
$X_{cp} \pm S$	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	$(7,1 \pm 0,8) \times 10^{10}$	$(9,3 \pm 1,1) \times 10^{10}$	132 ± 19	9 ± 1
	ИЦЭК МИБП TCEMPQ	$(7,2 \pm 0,6) \times 10^{10}$	$(7,8 \pm 1,1) \times 10^{10}$	110 ± 18	8 ± 1

Таблица 2. Чувствительность питательных сред при посеве взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA, приготовленной по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, эквивалентной $1,7 \times 10^9$ м.к./мл

Table 2. Sensitivity of the culture media following the seeding of the *B. abortus* 19 BA suspension prepared based on the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU, with the concentration equivalent to 1.7×10^9 microbial cells/mL

Период испытания Time period	Количество выросших колоний штамма <i>B. abortus</i> 19 BA при посеве ~10 м.к. Number of colonies grown from the <i>B. abortus</i> 19 BA strain following the seeding of ~10 microbial cells			
	Чашка Петри 1 Petri dish 1	Чашка Петри 2 Petri dish 2	Чашка Петри 3 Petri dish 3	$X_{cp} \pm S$
2012	15	19	21	18 ± 3
2013	15	19	17	17 ± 2
2015	17	23	20	20 ± 3
2016	19	20	17	19 ± 2
2016	13	15	16	15 ± 2
2017	16	17	21	18 ± 3
2018	22	30	25	26 ± 4
2019	18	15	19	17 ± 2
2020	17	23	23	21 ± 3
$X_{cp} \pm S$				19 ± 3

Таблица 3. Результаты испытаний при посеве 10 и 100 м.к. вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA из взвеси, приготовленной по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, эквивалентной концентрации $1,7 \times 10^9$ м.к./мл (КОЕ)

Table 3. Results of testing following the seeding of 10 and 100 microbial cells of the *B. abortus* 19 BA suspension prepared based on the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU, with the concentration equivalent to 1.7×10^9 microbial cells/mL (CFU)

Номер испытания Test number	Оператор Operator	Среднее количество выросших КОЕ при посеве <i>B. abortus</i> 19 BA Mean number of CFUs grown following the seeding of <i>B. abortus</i> 19 BA	
		~10 м.к. ~10 microbial cells	~100 м.к. ~100 microbial cells
1	1	16	172
	2	13	149
	3	17	180
	4	18	181
2	1	22	230
	2	26	234
	3	25	245
3	1	16	170
	2	14	124
	3	12	142
4	1	19	197
	2	22	149
	3	26	150
5	1	21	174
	2	21	152
	3	32	139
6	1	20	166
	2	14	177
	3	15	134
$X_{cp} \pm S$		19 ± 5	172 ± 34

бруцелл по ОСО мутности 10 МЕ может достигать значения 3×10^9 м.к./мл.

Если допустить, что коэффициент концентрации бруцелл по ОСО мутности эквивалентен значению 3×10^9 м.к./мл, то соответственно потребуются пересчет общей концентрации микробных клеток (ОК) в вакцине по формуле (3):

$$OK = (0,1 + n) \times 10 \times 3,0 \times 10^9, \quad (3)$$

где ОК — общая концентрация микробных клеток в 1 мл (м.к./мл); 0,1 — объем растворенной вакцины, мл; n — объем 0,9% раствора натрия хлорида, взятый для разведения пробы до ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, мл; 10 — постоянная величина (пересчет в 1 мл вакцины); $3,0 \times 10^9$ — коэффициент концентрации микробных клеток для бруцелл по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ.

Таблица 4. Результаты испытаний при посеве 100 м.к. вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA в серии разведений (КОЕ)
Table 4. Test results following the seeding of 100 microbial cells of the *B. abortus* 19 BA vaccine strain in a series of dilutions (CFU)

Номер испытания Test number	Оператор Operator	Среднее количество выросших КОЕ <i>B. abortus</i> 19 BA при посеве ~100 м.к. Mean number of CFUs grown following the seeding of ~100 microbial cells of <i>B. abortus</i> 19 BA				
		1 + 0,5	1 + 1	1 + 1,5	1 + 2	1 + 2,5
1	1	139	121	91	71	55
	2	115	85	61	54	48
	3	129	116	96	53	32
2	1	189	140	115	81	41
$X_{cp} \pm S$		143 ± 32	116 ± 23	91 ± 22	65 ± 13	44 ± 10

Таблица 5. Результаты статистического анализа количества выросших КОЕ вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA при посеве 100 м.к. в серии разведений с помощью критерия Стьюдента
Table 5. Results of the Student's *t*-test statistical analysis of the number of CFUs grown following the seeding of 100 microbial cells of the *B. abortus* 19 BA vaccine strain in a series of dilutions

Разведение Dilution	Статистические показатели при разведении Statistics for dilutions						
	3				3,5		
	$t_{кр}$ $t_{critical}$	$t_{эксп}$ $t_{experimental}$	p	Вывод о статистической значимости / незначимости различий Conclusion on the statistical significance of the difference	$t_{кр}$ $t_{critical}$	$t_{эксп}$ $t_{experimental}$	Вывод о статистической значимости / незначимости различий Conclusion on the statistical significance of the difference
1,5	2, 447	4,37	0,007	значимо significant	5,88	0,002	значимо significant
2		3,84	0,012	значимо significant	5,80	0,002	значимо significant
2,5		1,98	0,104	незначимо insignificant	3,84	0,012	значимо significant
3		не определяли not determined			2,51	0,054	значимо significant
3,5		2,51	0,054	значимо significant	не определяли not determined		

Примечание. $t_{кр}$ — критическое (табличное) значение *t*-критерия Стьюдента при уровне значимости $\alpha = 0,05$; $t_{эксп}$ — значение *t*-критерия Стьюдента, рассчитанное по экспериментальным данным; p — вероятность.

Note. $t_{critical}$ — critical (tabular) value of the Student's *t*-test at the significance level $\alpha = 0.05$; $t_{experimental}$ — Student's *t*-test value calculated for the experimental data; p — probability.

Таблица 6. Результаты испытаний при посеве 10 и 100 м.к. из взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19 BA, приготовленной по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, эквивалентной концентрации $3,0 \times 10^9$ м.к./мл (КОЕ)
Table 6. Results of testing following the seeding of 10 and 100 microbial cells of the *B. abortus* 19 BA suspension prepared based on the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU, with the concentration equivalent to 3.0×10^9 microbial cells/mL (CFU)

Номер испытания Test number	Оператор Operator	Среднее количество выросших КОЕ из взвеси <i>B. abortus</i> 19 BA с концентрацией $3,0 \times 10^9$ м.к./мл по ОСО мутности 10 МЕ Mean number of CFUs grown following the seeding of the <i>B. abortus</i> 19 BA suspension with the concentration of 3.0×10^9 microbial cells/mL according to the industrial reference standard of turbidity, 10 IU	
		~10 м.к. ~10 microbial cells	~100 м.к. ~100 microbial cells
1	1	10	94
	2	9	52
	3	6	50
2	1	10	84
	2	9	80
	3	8	85
3	1	10	92
	2	6	93
	3	8	89
$X_{cp} \pm S$		8 ± 2	80 ± 17

Таблица 7. Результаты испытаний при посеве ОСО вакцины бруцеллезной живой серии 6 (КОЕ)
Table 7. Results of testing following the seeding of the industrial reference standard of live brucellosis vaccine, batch 6 (CFU)

Номер образца Sample number	Среднее количество выросших КОЕ из взвеси вакцины бруцеллезной по ОСО мутности 10 МЕ, эквивалентной концентрации $1,7 \times 10^9$ м.к./мл Mean number of CFUs grown from the brucellosis vaccine suspension with the concentration equivalent to 1.7×10^9 microbial cells/mL according to the industrial reference standard of turbidity, 10 IU		Среднее количество выросших КОЕ из взвеси вакцины бруцеллезной по ОСО мутности 10 МЕ, эквивалентной предположительной концентрации $3,0 \times 10^9$ м.к./мл Mean number of CFUs grown from the brucellosis vaccine suspension with the concentration equivalent to 3.0×10^9 microbial cells/mL according to the industrial reference standard of turbidity, 10 IU	
	~10 м.к. ~10 microbial cells	~100 м.к. ~100 microbial cells	~10 м.к. ~10 microbial cells	~100 м.к. ~100 microbial cells
1	9	94	7	64
2	15	153	9	89
3	5	88	4	64
4	12	115	11	75
5	10	75	3	73
6	10	124	3	74
7	12	98	8	84
8	9	126	6	61
9	26	187	8	91
10	9	76	5	49
11	17	121	10	79
12	12	113	7	71
13	14	131	9	82
14	14	130	7	64
15	14	166	10	83
16	12	112	8	70
17	18	152	6	78
18	9	97	5	66
19	16	103	6	59
20	9	102	4	64
$X_{cp} \pm S$	13 ± 4	118 ± 29	7 ± 2	72 ± 11

При пересчете результатов испытаний 9 серий вакцины бруцеллезной по показателю «Специфическая активность» (общая концентрация и количество живых микробных клеток) на предприятии-производителе и в ИЦЭК МИБП установлено, что общая концентрация микробных клеток в вакцине составляет $(12,6 \pm 1,5) \times 10^{10}$ и $(12,7 \pm 1,0) \times 10^{10}$ м.к./мл. Соответственно и количество живых микробных клеток в вакцине составит $75 \pm 12\%$ на производстве и $65 \pm 11\%$ в ИЦЭК МИБП, что является оптимальным соотношением общей концентрации микробных клеток и живых микробных клеток для данного показателя в живых бактериальных вакцинах (табл. 8).

В связи с этим считаем возможным внесение изменений в требования к показателю качества «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток) вакцины бруцеллезной живой в следующей редакции: концентрация микробных клеток должна составлять $(12 \pm 5) \times 10^{10}$ м.к./мл (в соответствии с НД $(7 \pm 3) \times 10^{10}$ м.к./мл).

Также есть основания к изменению требований к показателю качества вакцины «Специфическая активность» (количество живых микробных клеток): количество живых микробных клеток должно составлять не менее 40% от общей концентрации (в соответствии с НД — не менее 60%). Данное требование коррелирует с требованиями к данному показателю для других

живых вакцин против особо опасных инфекционных заболеваний. Например, в вакцине чумной живой должно быть не менее 25% живых микробных клеток от общей концентрации⁷, в живых вакцинах туляреминой⁸ и сибиреязвенной⁹ — не менее 40%.

В связи с увеличением общей концентрации микробных клеток в вакцине бруцеллезной живой соответственно изменится и требование к показателю «Специфическая активность» (количество накожных доз): в ампуле с вакциной должно быть от 7 до 17 накожных доз (в соответствии с НД — от 4 до 10). Установленное экспериментально количество накожных доз на предприятии-производителе и в ИЦЭК МИБП (9 ± 1 и 8 ± 1 соответственно) попадает в диапазон предлагаемых требований от 7 до 17 (табл. 8).

Таким образом, по нашим предварительным данным концентрация бруцелл по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ не соответствует значению $1,7 \times 10^9$ м.к./мл. Возможная причина выявленного несоответствия состоит в морфологических особенностях микроорганизма — бруцеллы представляют собой мелкие коккобациллы или короткие палочки, которые располагаются беспорядочно и образуют скопления¹⁰, что значительно затрудняет их подсчет в камере Горяева. Поэтому рекомендуемое в Государственной фармакопее Российской

⁷ Фармакопейная статья 3.3.1.0022.15 Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁸ Фармакопейная статья 3.3.1.0019.15 Вакцина туляреминая живая, лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения и накожного скарификационного нанесения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁹ Фармакопейная статья 3.3.1.0016.15 Вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

Таблица 8. Результаты испытания вакцины бруцеллезной живой по показателю «Специфическая активность» на производстве (данные паспорта) и в ИЦЭК МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в период с 2012 по 2020 г.
Table 8. Results of specific activity testing of the live brucellosis vaccine during production (passport information) and by the TCEMIPQ from 2012 to 2020

Период испытаний Time period	Концентрация м.к./мл по ОСО мутности 10 МЕ Concentration, microbial cells/mL according to the industrial reference standard of turbidity, 10 IU		Процент живых м.к. Percent of living microbial cells		Количество доз в ампуле Number of doses per ampoule	
	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	ИЦЭК МИБП ТCEMIPQ	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	ИЦЭК МИБП ТCEMIPQ	Производство (данные паспорта) Production (passport data)	ИЦЭК МИБП ТCEMIPQ
2012	12,7×10 ¹⁰	14,3×10 ¹⁰	78	55	10	8
2013	13,4×10 ¹⁰	13,4×10 ¹⁰	78	78	10	10
2015	13,1×10 ¹⁰	12,7×10 ¹⁰	53	55	7	7
2016	14,1×10 ¹⁰	14,1×10 ¹⁰	65	57	9	8
2016	14,1×10 ¹⁰	12,0×10 ¹⁰	64	77	9	9
2017	9,7×10 ¹⁰	11,6×10 ¹⁰	85	65	8	8
2018	12,3×10 ¹⁰	12,3×10 ¹⁰	81	52	10	6
2019	11,3×10 ¹⁰	11,8×10 ¹⁰	87	63	10	7
2020	12,1×10 ¹⁰	12,3×10 ¹⁰	84	79	10	10
$X_{cp} \pm S$	(12,6 ± 1,5)×10 ¹⁰	(12,7 ± 1,0)×10 ¹⁰	75 ± 12	65 ± 11	9 ± 1	8 ± 1

Федерации XIV изд. определение концентрации бактериальной взвеси в камере Горяева с помощью микроскопа при увеличении ×40 не позволяет достаточно точно подсчитать единичные клетки бруцелл¹¹ [8].

ОСО мутности бактериальных взвесей используется не только для определения общей концентрации микробных клеток в бруцеллезной вакцине, но и при контроле чувствительности питательных сред для культивирования и выделения бруцеллезного микроба и диагностических препаратов, а также при разведении взвеси вирулентного штамма при испытании иммуногенности вакцины. Несоответствие коэффициента концентрации бруцеллезного микроба ОСО мутности в таких испытаниях может привести как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам. В связи с этим для внесения соответствующих изменений в НД на вакцину бруцеллезную, а также в паспорт и инструкцию по применению на ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ (ОСО 42-28-85П) по коэффициенту концентрации бруцелл необходимо провести ряд дополнительных испытаний, в том числе и на других видах бруцелл.

Заключение

При анализе полученных результатов испытания вакцины бруцеллезной по показателю «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз) и вакцинного штамма *B. abortus* 19-BA установлено следующее.

1. Коэффициент концентрации бруцелл в бактериальной взвеси по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ не соответствует значению 1,7×10⁹ м.к./мл и требует уточнения.

2. Согласно предварительным результатам коэффициент концентрации бруцеллезного микроба по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ может достигать значения 3,0×10⁹ м.к./мл.

3. Полученные результаты служат основанием для проведения дополнительных исследований, в том числе с использованием других видов бруцелл, с целью уточнения коэффициента

концентрации бруцеллезного микроба для внесения его в дальнейшем в паспорт и инструкцию по применению на ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ.

4. Полученные в дальнейших исследованиях значения коэффициента концентрации бруцелл по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ послужат основанием для внесения изменений в требования нормативной документации на вакцину бруцеллезную живую по показателю качества «Специфическая активность» (концентрация микробных клеток, количество живых микробных клеток, количество накожных доз).

Вклад авторов. И. В. Касина — идея, концепция и дизайн исследования, экспериментальная работа по определению концентрации в бактериальной взвеси вакцинного штамма *B. abortus* 19-BA по ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ в серии разведений, обобщение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов, статистическая обработка результатов, написание текста и критический пересмотр его содержания; С. А. Алексеева — экспериментальная работа по определению концентрации бруцелл в бактериальной взвеси ОСО вакцины бруцеллезной живой, эквивалентной ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, анализ и интерпретация результатов исследования, написание текста; Т. И. Немировская — корректировка текста статьи и окончательное утверждение версии статьи для публикации.

Authors' contributions. Irina V. Kasina—elaboration of the study idea, concept, and design; experimental work on determination of brucella concentration in the bacterial suspension of the *Brucella abortus* strain 19 BA in a series of dilutions by comparison with the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU; summarising of experimental data; analysis, interpretation, and statistical processing of the results; writing and revising of the text; Svetlana A. Alekseeva—experimental work on determination of brucella concentration that is equivalent to the industrial reference standard of bacterial suspension turbidity, 10 IU, in the bacterial suspension of the industrial reference

¹⁰ Поздеев ОК. Медицинская микробиология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2004.

¹¹ Общая фармакопейная статья 1.7.2.0008.15 Определение концентрации микробных клеток. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

standard of live brucellosis vaccine; analysis and interpretation of the study results; **Tatyana I. Nemirovskaya**—revising of the text and approval of the final version of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00003-20-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9). Выражаем благодарность главному технологу ИЦЭК МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России кандидату биологических наук Ольге Васильевне Фадейкиной за оказанную помощь в статистической обработке результатов.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00003-20-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9). The authors express their gratitude to Olga Fadeykina, Candidate of Biological Sciences, chief technologist of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation for her assistance in the statistical processing of the results.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Желудков ММ, Цирельсон ЛЕ. Резервуары бруцеллезной инфекции в природе. *Зоологический журнал*. 2010;89(1):53–60. [Zheludkov MM, Tsirelson LE. Reservoirs of Brucella infection in nature. *Zoologicheskii zhurnal = Zoological Journal*. 2010;89(1):53–60 (In Russ.)]
2. Лямкин ГИ, Пономаренко ДГ, Худолеев АА, Вилинская СВ, Зайцев АА, Куличенко АН. Эпидемическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации и государствах — участниках Содружества Независимых Государств. *Инфекционные болезни. Новости. Мнения. Обучение*. 2016;(1):68–74. [Lyamkin GI, Ponomarenko DG, Khudoleev AA, Vilinskaya SV, Zaytsev AA, Kulichenko AN. The epidemiological situation of brucellosis the Russian Federation and the member states of the Commonwealth of Independent States. *Infektsionnyye bolezni. Novosti. Mneniya. Obucheniye = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2016;(1):68–74 (In Russ.)]
3. Охупкина ВЮ, Пяткова НВ, Павлов ДЛ, Суслопаров АА. Эпидемическая опасность бруцеллеза в современных условиях. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016;15(3):15–22. [Okhapkina VYu, Pyatkova NV, Pavlov DL, Susloparov AA. Epidemic risk of brucellosis in modern conditions. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(3):15–22 (In Russ.)]
4. Попова ТГ, Новицкий АА, Колычев НМ. Эпизоотологические и экологические аспекты специфической профилактики бруцеллеза. *Ветеринария*. 2012;(3):24–6. [Popova TG, Novitskiy AA, Kolychev NM. Epizootological and environmental aspects of specific prophylaxis brucellosis. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 2012;(3):24–6 (In Russ.)]
5. Цирельсон ЛЕ, Желудков ММ, Кулаков ЮК. Обзор проблем вакцинопрофилактики бруцеллеза. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013;3(70):77–81. [Tsirel'son LE, Zheludkov MM, Kulakov YUK. Overview of problems of vaccinal prevention of brucellosis. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013;3(70):77–81 (In Russ.)]
6. Мовсесянц 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. [Movsesyants AA, Mironov AN, Merkulov VA, Borisevich IV. Aims and objectives Testing Center for Quality Expertise of Medical Immunobiological Preparations. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2012;(1):7–9 (In Russ.)]
7. Мовсесянц АА, Бондарев ВП, Олещук 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. [Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products—new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(2):38–41 (In Russ.)]
8. Фадейкина ОВ, Касина ИВ, Алексеева СА, Ковтун ВП, Бурдина ЕН, Ермолаева ТН и др. Применение отраслевого стандартного образца мутности бактериальных взвесей для определения общей концентрации микробных клеток в суспензиях сибиреязвенного, чумного и бруцеллезного микробов. *Успехи современного естествознания*. 2015;1(8):1287–90. [Fadeikina OV, Kasina IV, Alekseeva SA, Kovtun VP, Burdina EN, Ermolaeva TN, et al. Application of an industry standard sample of turbidity of bacterial suspensions to determine the total concentration of microbial cells in suspensions of anthrax, plague and brucellosis microbes. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = The Successes of Modern Science*. 2015;1(8):1287–90 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Касина Ирина Владимировна, канд. биол. наук. Irina V. Kasina, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2002-0151>

Алексеева Светлана Александровна, канд. биол. наук. Svetlana A. Alekseeva, Cand. Sci. (Biol.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5804-5709>

Немировская Татьяна Ивановна, канд. мед. наук. Tatyana I. Nemirovskaya, Cand. Sci. (Med.). ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0848-7306>

Поступила 08.07.2019

После доработки 25.05.2020

Принята к публикации 27.05.2020

Received 8 July 2019

Revised 25 May 2020

Accepted 27 May 2020