

УДК 615.373:615.07:577.2

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-463-473>

Научно-методическая статья | Scientific methodology article



К вопросу оценки вирусной безопасности индивидуальных единиц субстанции «Плазма человека для фракционирования» методом амплификации нуклеиновых кислот

Е.В. Эльберт[✉], В.В. Ножко, Р.А. Волкова, А.А. Мовсесянц, В.А. Меркулов,
В.В. Косенко

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

✉ Эльберт Елизавета Викторовна; Elbert@expmed.ru

Резюме

Актуальность. Отсутствие гемотрансмиссивных вирусов в лекарственных препаратах, полученных из плазмы крови человека, должно быть обеспечено контролем исходного сырья и технологией производства.

Цель. Изучение критериев пригодности системы методики при оценке вирусной безопасности индивидуальных единиц субстанции «Плазма человека для фракционирования» в отношении содержания нуклеиновых кислот гемотрансмиссивных вирусов с учетом требований Европейской фармакопеи.

Материалы и методы. Индивидуальные единицы субстанции «Плазма человека для фракционирования» (далее – плазма); международные стандартные образцы (МСО) РНК вируса иммунодефицита человека, вирусов гепатитов А и С (ВГА и ВГС), ДНК вируса гепатита В (ВГВ) и парвовируса В19; наборы реагентов для выявления нуклеиновых кислот указанных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. В исследованных образцах плазмы не выявлена РНК ВГС; ДНК парвовируса В19 обнаружена в одном образце плазмы из восьми, концентрация не превышала 10^4 МЕ/мл. Используемые наборы реагентов в трех испытаниях соответствующих МСО позволили выявить РНК ВГС в концентрации 10^2 МЕ/мл, ДНК парвовируса В19 (генотип М1) – 10^4 МЕ/мл. Результаты дополнительных испытаний двух образцов плазмы с учетом требований Европейской фармакопеи при определении РНК ВГС и ДНК парвовируса В19 показали, что новая серия набора реагентов выявляла 10^2 МЕ/мл МСО РНК ВГС только в одном из трех испытаний, что не соответствует заявленной чувствительности набора реагентов. В одном из двух образцов плазмы РНК ВГС не была обнаружена ни в одном испытании с добавлением МСО РНК ВГС до концентрации 10^2 и 10^3 МЕ/мл, возможно, из-за ингибирующих свойств плазмы. В отношении ДНК парвовируса В19 чувствительность наборов реагентов соответствовала заявленной, ингибирующие свойства исследованных образцов плазмы не выявлены.

Выводы. При применении метода ПЦР для оценки вирусной безопасности плазмы, предназначенной для производства препаратов крови, целесообразно использование контрольных образцов, охарактеризованных в МЕ/мл. Для установления критериев пригодности системы методики с их применением необходима разработка соответствующих фармакопейных стандартных образцов.

Ключевые слова: вирусная безопасность; плазма человека для фракционирования; РНК вируса гепатита С; ДНК парвовируса В19; маркеры гемотрансмиссивных вирусов; полимеразная цепная реакция; ПЦР; набор реагентов

© Е.В. Эльберт, В.В. Ножко, Р.А. Волкова, А.А. Мовсесянц, В.А. Меркулов, В.В. Косенко, 2023

Для цитирования: Эльберт Е.В., Ножко В.В., Волкова Р.А., Мовсисянц А.А., Меркулов В.А., Косенко В.В. К вопросу оценки вирусной безопасности индивидуальных единиц субстанции «Плазма человека для фракционирования» методом амплификации нуклеиновых кислот. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(3–1):463–473. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-463-473>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

Конфликт интересов. В.А. Меркулов (с 2021 г.) является главным редактором, А.А. Мовсисянц (с 2001 г.) — членом редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

On assessing the viral safety of individual units of the substance "Human plasma for fractionation" by nucleic acid amplification

Elizaveta V. Elbert✉, Vitalina V. Nozhko, Rauza A. Volkova, Artashes A. Movsesyants, Vadim A. Merkulov, Valentina V. Kosenko

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

✉ Elizaveta V. Elbert; Elbert@expmed.ru

Abstract

Scientific relevance. The absence of blood-borne viruses in human plasma-derived medicinal products must be ensured by the control of raw materials and the manufacturing process.

Aim. This study aimed to analyse system suitability criteria for analytical procedures to assess the viral safety of individual units of the substance "Human plasma for fractionation" in terms of the content of nucleic acids of blood-borne viruses, considering the requirements of the European Pharmacopoeia.

Materials and methods. The authors analysed individual units of the substance "Human plasma for fractionation" (hereinafter, plasma). The study used the International Standards (ISs) for human immunodeficiency virus RNA, hepatitis A virus (HAV) RNA, hepatitis C virus (HCV) RNA, hepatitis B virus (HBV) DNA, and parvovirus B19 DNA, as well as nucleic acid detection kits for these viruses based on polymerase chain reaction (PCR).

Results. HCV RNA was not detected in any of the eight plasma samples studied, and parvovirus B19 DNA was detected in one of the samples at a concentration not exceeding 10^4 IU/mL. Three tests with the corresponding ISs showed that the studied reagent kits detected HCV RNA at a concentration of 10^2 IU/mL and parvovirus B19 DNA (M1 genotype) at a concentration of 10^4 IU/mL. In additional tests that were conducted in two samples considering the requirements of the European Pharmacopoeia for the detection of HCV RNA and parvovirus B19 DNA, a new batch of reagent kit I detected the HCV RNA IS at a concentration of 10^2 IU/mL only in one of three replicates, which did not correspond to the claimed sensitivity of the reagent kit. HCV RNA was not detected in either replicate in one of two plasma samples spiked with the HCV RNA IS at concentrations of 10^2 and 10^3 IU/mL, possibly because of plasma inhibitory properties. The sensitivity of the reagent kits to parvovirus B19 DNA corresponded to the label claims; the study did not show any inhibitory properties of the plasma samples.

Conclusions. Polymerase chain reaction testing of the viral safety of plasma intended for manufacturing medicinal products should include control samples calibrated in IU/mL. Further research and appropriate pharmacopoeial reference materials are needed to set system suitability criteria for analytical procedures using such control samples.

Key words: viral safety; human plasma for fractionation; hepatitis C virus RNA; parvovirus B19 DNA; markers of blood-borne viruses; polymerase chain reaction; PCR; reagent kit

For citation: Elbert E.V., Nozhko V.V., Volkova R.A., Movsesyants A.A., Merkulov V.A., Kosenko V.V. On assessing the viral safety of individual units of the substance "Human plasma for fractionation" by nucleic acid amplification. *Biological Products. Prevention, diagnosis, treatment*. 2023;23 (3–1):463–473. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-3-1-463-473>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

Conflict of interest. V.A. Merkulov has been the Editor-in-Chief of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment* since 2021. A.A. Movsesyants has been a member of the Editorial Board of the journal since 2001. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Введение

Препараты, получаемые из плазмы крови человека, должны соответствовать нормативным требованиям по показателю «Вирусная безопасность». В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ XIV)¹, гармонизированными с международными требованиями², как донорская кровь, так и плазма крови человека для фракционирования должны быть свободны от вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), вирусов гепатитов В и С (ВГВ и ВГС). Подтверждение отсутствия нуклеиновых кислот указанных вирусов в субстанции «Плазма человека для фракционирования» является обязательной мерой минимизации риска вирусной контаминации лекарственных препаратов, получаемых из нее. Данное требование включено в нормативные документы отечественных производителей.

Кроме того, программа тестирования на вирусную безопасность плазмы крови человека, предназначенной для производства препа-

ратов крови, дополнительно может включать определение содержания маркеров ряда других вирусов, например в Российской Федерации – РНК вируса гепатита А (ВГА), ДНК парвовируса В19 (в некоторых регионах могут быть включены другие вирусы в зависимости от эпидемиологической обстановки)³; в Европейском союзе – РНК вирусов гепатита А и Е, ДНК парвовируса В19⁴; в США – вируса Западного Нила и парвовируса В19⁵.

Для этих целей в программу тестирования индивидуальных единиц субстанции «Плазма человека для фракционирования», минипулов и производственного пула плазмы дополнительно должна быть включена валидированная методика определения содержания нуклеиновых кислот регламентированных вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), в которой в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV⁶ должна быть описана пробоподготовка и предусмотрены критерии пригодности системы используемой методики⁷ (далее – критерии пригодности системы). В соответствии

¹ ФС.3.3.2.0001.19 Плазма человека для фракционирования. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018 (введена взамен ФС.3.3.2.0001.18 «Плазма человека для фракционирования» приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 185 от 29.03.2019 «Об утверждении общей фармакопейной статьи и фармакопейной статьи»).

ОФС.1.8.1.0007.18 Вирусная безопасность лекарственных препаратов из плазмы крови человека. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

² Human plasma for fractionation 01/2020:0853. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

Human plasma (pooled and treated for virus inactivation) 01/2021:1646. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

USP 41–NF 36 <1180> Human plasma, 2018.

Guideline on plasma-derived medicinal products (EMA/CHMP/BWP/706271/2010). EMA; 2011. https://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/07/WC500109627.pdf

Nucleic acid testing to reduce the possible risk of parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Guidance for Industry. FDA; 2009.

³ ОФС.1.8.1.0007.18 Вирусная безопасность лекарственных препаратов из плазмы крови человека. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

⁴ Human plasma for fractionation 01/2020:0853. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

Human plasma (pooled and treated for virus inactivation) 01/2021:1646. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

Guideline on plasma-derived medicinal products (EMA/CHMP/BWP/706271/2010). EMA; 2011. https://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/07/WC500109627.pdf

⁵ USP 41–NF 36 <1180> Human plasma, 2018.

Nucleic acid testing to reduce the possible risk of parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Guidance for Industry. FDA; 2009.

⁶ ОФС.1.7.2.0013.15 Полимеразная цепная реакция. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

⁷ ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, 2005.

с требованиями Европейской фармакопеи (ЕФ)⁸ при использовании метода ПЦР (метода амплификации нуклеиновых кислот) предусмотрены критерии пригодности системы при оценке содержания РНК ВГС и ВГА, ДНК парвовируса В19. Пригодность системы для каждого маркера оценивают с помощью соответствующего контрольного (стандартного) образца, охарактеризованного в международных единицах, МЕ/мл: РНК ВГС, РНК ВГА — в концентрации, равной 10^2 МЕ/мл, ДНК В19 — в концентрации, равной 10^4 МЕ/мл⁹. При этом контрольный (стандартный) образец используется не только как таковой, но и с добавлением до указанной концентрации к испытываемому образцу для оценки эффективности выделения нуклеиновых кислот и/или отсутствия ингибирования реакции.

В Российской Федерации тестирование плазмы доноров на наличие нуклеиновых кислот регламентированных вирусов проводится с использованием валидированной методики с помощью зарегистрированных наборов реагентов для выявления нуклеиновых кислот методом ПЦР с установленной аналитической чувствительностью. В настоящее время в России зарегистрировано около десяти отечественных наборов реагентов различных производителей для выявления нуклеиновых кислот ВГВ, ВГС, ВИЧ, среди которых имеются наборы для одновременного выявления нуклеиновых кислот ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Чувствительность этих наборов находится в диапазоне от 5 до нескольких сотен МЕ/мл в зависимости от вида возбудителя или объема анализируемого образца (от 0,2 до 1 мл) и сопоставима с чувствительностью наборов реагентов зарубежного производства.

Для выявления нуклеиновых кислот ВГА и парвовируса В19 в плазме крови в Российской Федерации зарегистрированы наборы реагентов двух отечественных производителей. Результаты исследований по оценке вирусной безопасности плазмы крови в отношении парвовируса В19 и ВГА освещены в российской¹⁰ [1–7] и зарубежной научной литературе [8–10], исследования проводятся также и в отношении РНК ВГС и других вирусов [11–14].

Для контроля субстанции «Плазма человека для фракционирования» по показателю качества «Вирусная безопасность» допускается возможность использования любых зарегистрированных наборов реагентов для проведения ПЦР без конкретизации условий их применения, например, объема анализируемого образца. В отечественных наборах реагентов предусмотрена оценка пригодности системы с использованием положительного контрольного образца и внутреннего контрольного образца, однако концентрация этих контрольных образцов не охарактеризована в международных единицах (МЕ/мл). В инструкции по применению наборов реагентов не указано использование контрольного образца с определенной концентрацией в МЕ/мл; необходимые для этих целей фармакопейные стандартные образцы отсутствуют. В связи с этим исследование методических подходов к оценке вирусной безопасности плазмы крови для фракционирования методом амплификации нуклеиновых кислот с использованием критериев пригодности системы является актуальным.

Цель работы — изучение критериев пригодности системы при оценке вирусной безопасности индивидуальных единиц субстанции «Плазма человека для фракционирования» в отношении содержания нуклеиновых кислот гемотрансмиссивных вирусов с учетом требований Европейской фармакопеи.

Задачей исследования являлось изучение критериев пригодности системы на примере выявления РНК ВГС и ДНК парвовируса В19 при использовании отечественных наборов реагентов для определения нуклеиновых кислот методом ПЦР и международных стандартных образцов РНК ВГС и ДНК парвовируса В19, охарактеризованных в международных единицах (МЕ/мл).

Материалы и методы

Материалы:

- индивидуальные единицы субстанции «Плазма человека для фракционирования» (далее — плазма), предназначенной для производства препаратов крови — 8 образцов;

⁸ Human plasma (pooled and treated for virus inactivation) 01/2021:1646. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

⁹ Там же.

¹⁰ Попцов АЛ. Значение индикации ДНК парвовируса В19 в обеспечении инфекционной безопасности плазмы для фракционирования: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киров; 2015.

Зубкова НВ. Биотехнологические аспекты вирусной безопасности препаратов иммуноглобулинов: Методология, производство, стандартизация: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. Пермь; 2012.

Парамонов ИВ. Система обеспечения качества и инфекционной безопасности плазмы для фракционирования в условиях ее массовой заготовки: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киров; 2017.

- образцы сыворотки, использованные для разведения международных стандартных образцов (МСО); образцы сыворотки предварительно проверены на отсутствие РНК ВГС и ВГА, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ДНК вируса ВГВ и парвовируса В19 с помощью указанных далее наборов реагентов;
- нормальная сыворотка крови человека (компонент отраслевого стандартного образца – ОСО 42-28-77, ФСО 3.1.00077 стандартный образец тест-системы для определения фракционного (антигенного) состава препаратов из сыворотки крови человека методом иммуноэлектрофореза) производства ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства»;
- контрольная сыворотка Kemtrol, норма (Kemtrol Serum Control–Normal Kit, Helena BioSciences Europe, Великобритания, артикул 7024).

В работе использовали наборы реагентов для выявления нуклеиновых кислот гемотрансмиссивных вирусов в клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

1. Наборы реагентов для одновременного выявления РНК ВГС, ДНК ВГВ и РНК ВИЧ:

- набор реагентов «АмплиСенс HCV/HBV/HIV-FL» производства ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора), Россия (кат. № TR-V62-Ms (RG,Dt)); аналитическая чувствительность: 50 МЕ/мл ВГС, 25 МЕ/мл ВГВ, 100 копий/мл ВИЧ-1, 300 копий/мл ВИЧ-2 – при объеме исследуемого материала 0,2 мл; 10 МЕ/мл ВГС, 5 МЕ/мл ВГВ, 20 копий/мл ВИЧ-1, 60 копий/мл ВИЧ-2 при объеме исследуемого материала 1,0 мл (набор реагентов I);
- набор реагентов «РеалБест ВГВ/ВГС/ВИЧ ПЦР» производства АО «Вектор-Бест», Россия (кат. № D-0592); аналитическая чувствительность: 10 МЕ/мл ВГВ, 15 МЕ/мл ВГС, 30 МЕ/мл ВИЧ-1, 50 МЕ/мл ВИЧ-2 при объеме исследуемого материала 1,0 мл (набор реагентов II).

2. Наборы реагентов для выявления РНК ВГА:

- набор реагентов «АмплиСенс HAV-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (кат. № R-V4(RG,iQ)); аналитическая чувствительность при объеме образца 0,2 мл – 250 копий/мл; объеме 1,0 мл – 50 копий/мл (набор реагентов III);
- набор реагентов «РеалБест РНК ВГА» производства АО «Вектор-Бест», Россия (кат. № D-0398);

аналитическая чувствительность при объеме образца 1,0 мл – 50 копий/мл (набор реагентов IV).

3. Наборы реагентов для выявления ДНК парвовируса В19:

- набор реагентов «АмплиСенс Parvovirus B19-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (кат. № R-V49 (RG, iQ, Mx)); аналитическая чувствительность при выявлении ДНК: 360 МЕ/мл, при количественном определении линейный диапазон измерения 720–9000000 МЕ/мл (набор реагентов V);
- набор реагентов «РеалБест ДНК Parvovirus B19» производства АО «Вектор-Бест», Россия (кат. № D-2801); аналитическая чувствительность не указана (набор реагентов VI).

В работе использовались следующие Международные стандартные образцы (МСО):

- МСО ВГВ для метода амплификации нуклеиновых кислот (3rd WHO International standard for hepatitis B virus for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code: 10/264) (далее – МСО ДНК ВГВ);
- МСО ВГС для метода амплификации нуклеиновых кислот (4th WHO International standard for hepatitis C virus for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code: 06/102) (далее – МСО РНК ВГС 06/102);
- МСО ВГС для метода амплификации нуклеиновых кислот (6th WHO International standard for hepatitis C virus RNA for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code: 18/184) (далее – МСО РНК ВГС 18/184);
- МСО ВИЧ-1 для метода амплификации нуклеиновых кислот (HIV-1 International standard, NIBSC code: 10/152) (далее – МСО РНК ВИЧ-1);
- МСО ВГА для метода амплификации нуклеиновых кислот (2nd WHO International standard for hepatitis A virus for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code: 00/562) (далее – МСО РНК ВГА);
- международная референс-панель генотипов парвовируса В19 для метода амплификации нуклеиновых кислот (1st WHO international reference panel for Parvovirus B19 genotypes for NAT-based assays, NIBSC code: 09/110) (далее – референс-панель генотипов);
- МСО парвовируса В19 для метода амплификации нуклеиновых кислот (3rd WHO International standard for Parvovirus B19 for nucleic acid amplification techniques, NIBSC code: 12/208) (далее – МСО ДНК В19);
- референс-панель с низким содержанием контрольных материалов ВГС, ВГВ и ВИЧ для метода амплификации нуклеиновых кислот (CE Marked Material HBV, HCV and HIV

Multiplex 14/198-XXX, NIBSC code: 14/198-XXX), концентрация нуклеиновых кислот в инструкции не указана¹¹.

Оборудование:

- амплификатор Real-Time CFX96 Touch (BioRad, США);
- программное обеспечение CFX Manager (BioRad, США).

Методы

ПЦР проводили в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов реагентов, в которых предусмотрены собственные положительный контрольный образец (ПКО) и внутренний контрольный образец (ВКО) для оценки эффективности выделения или ингибирования реакции; однако характеристика образцов в МЕ/мл не приведена, концентрация данных образцов при проведении ПЦР не указана. В связи с этим одновременно с образцами плазмы в качестве дополнительного положительного контроля оценивали МСО, которые предварительно разводили до концентрации 10^5 МЕ/мл, а затем готовили необходимые разведения с концентрацией 10^4 , 10^3 и 10^2 МЕ/мл (10^3 и 10^2 МЕ/мл для РНК ВГС; 10^2 МЕ/мл для РНК ВГА, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ДНК ВГВ; 10^3 и 10^4 МЕ/мл для ДНК парвовируса В19). Для приготовления указанных разведений МСО использовали образцы сыворотки крови человека, предварительно проверенные на отсутствие РНК/ДНК гемотрансмиссивных вирусов.

В испытаниях для выявления РНК ВГС использовали наборы реагентов для одновременного выявления нуклеиновых кислот ВИЧ, ВГВ и ВГС, в связи с чем использовали также МСО РНК ВИЧ-1 и МСО ДНК ВГВ. Для приготовления образцов плазмы с добавлением МСО РНК ВГС или МСО ДНК парвовируса В19 соответствующие МСО разводили до нужной концентрации испытуемыми образцами плазмы. Разведения МСО и образцы плазмы анализировали в трех повторностях.

В соответствии с инструкциями по применению наборов реагентов в исследуемых образцах результат ПЦР признавали положительным, если значение показателя порогового цикла ПЦР

(Ct) было менее 40, результат признавали отрицательным, если $Ct > 40$ или отсутствует (предел указан производителем во вкладышах, прилагаемых к наборам реагентов). Результаты ПЦР учитывали, если выполнялись критерии для оценки контрольных образцов производителя набора реагентов (указаны производителем во вкладышах, прилагаемых к наборам реагентов).

Для представления результатов исследования в таблицах использовались данные не количественного анализа.

Результаты и обсуждение

Показано, что все использованные наборы реагентов для проведения ПЦР выявляют ДНК/РНК ВГВ, ВГА, ВГС, ВИЧ-1 в образцах МСО с концентрацией 10^2 МЕ/мл и ДНК вируса В19 в образцах МСО с концентрацией 10^4 МЕ/мл (табл. 1).

В отношении ДНК парвовируса В19 были проведены испытания референс-панели генотипов парвовируса В19, результаты которых показали, что два набора реагентов для проведения ПЦР выявляют парвовирус В19 только генотипа М1: набор реагентов V определяет вирус в концентрации 10^3 и 10^4 МЕ/мл, набор реагентов VI – в концентрации 10^4 МЕ/мл, два других генотипа (М2 и М3) оба набора реагентов не выявили. Полученные результаты согласуются с данными научной литературы [1–5], при этом все три генотипа могут быть обнаружены зарегистрированным в Российской Федерации набором реагентов Cobas® TaqScreen DPX Test (Roche)¹².

Далее проводили анализ восьми образцов плазмы с использованием наборов реагентов одного производителя (табл. 2). Результаты испытаний на выявление РНК ВГА не включены в таблицу 2, так как были проведены только на трех образцах плазмы (№ 1–3), в которых РНК ВГА не была определена.

Было показано, что РНК ВГС, ВИЧ-1 и ВИЧ-2, ДНК ВГВ не выявлены во всех восьми образцах плазмы (№ 1–8). ДНК парвовируса В19 обнаружена в одном из 8 образцов в концентрации, не превышающей 10^4 МЕ/мл (Ct по каналу HEX (Parvovirus В19) для МСО 10^4 МЕ/мл – 14,86, для образца плазмы № 3 – 32,41).

С двумя образцами плазмы (№ 6 и 7) дополнительно были проведены испытания в соответствии

¹¹ <https://www.nibsc.org/documents/ifu/14-198-xxx.pdf>

¹² Попцов АЛ. Значение индикации ДНК парвовируса В19 в обеспечении инфекционной безопасности плазмы для фракционирования: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киров; 2015.

Зубкова НВ. Биотехнологические аспекты вирусной безопасности препаратов иммуноглобулинов: Методология, производство, стандартизация: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. Пермь; 2012.

Парамонов ИВ. Система обеспечения качества и инфекционной безопасности плазмы для фракционирования в условиях её массовой заготовки: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Киров; 2017.

Таблица 1. Анализ международных стандартных образцов (МСО) РНК/ДНК вирусов гепатитов В (ВГВ), С (ВГС), А (ВГА), вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1), парвовируса В19 (В19) с использованием наборов реагентов I–VI двух производителей для выявления нуклеиновых кислот методом ПЦР

Table 1. Analysis of International Standards (ISs) for RNA/DNA of hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), human immunodeficiency virus (HIV-1), and parvovirus B19 (B19) using reagent kits I–VI for nucleic acid detection by polymerase chain reaction (PCR) from two manufacturers

Наименование МСО <i>IS name</i>	Концентрация нуклеиновой кислоты в образце (МЕ/мл) <i>Nucleic acid concentration in the sample (IU/mL)</i>	Результат ПЦР с использованием набора реагентов <i>PCR results using</i>	
		Набор реагентов I <i>Reagent kit I</i>	Набор реагентов II <i>Reagent kit II</i>
МСО ДНК ВГВ <i>HBV DNA IS</i>	10 ²	+++	+++
МСО РНК ВГС 06/102 <i>HCV RNA IS 06/102</i>	10 ²	+++	+++
МСО РНК ВГС 18/184 <i>HCV RNA IS 18/184</i>	10 ³	+++	+++
МСО РНК ВИЧ-1 <i>HIV-1 RNA IS</i>	10 ²	+++	+++
		Набор реагентов III <i>Reagent kit III</i>	Набор реагентов IV <i>Reagent kit IV</i>
МСО РНК ВГА <i>HAV RNA IS</i>	10 ²	+++	+++
		Набор реагентов V <i>Reagent kit V</i>	Набор реагентов VI <i>Reagent kit VI</i>
МСО ДНК В19 <i>B19 DNA IS</i>	10 ³ 10 ⁴	+++ +++	--- +++

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Представлены результаты проведения ПЦР в трех повторностях. «+» — положительный результат ПЦР в одном испытании; «-» — отрицательный результат ПЦР в одном испытании; Н. о. — не определяли.

Note. The table presents the results of PCR tests in three replicates. +, positive PCR result in one replicate; -, negative PCR result in one replicate; N. d., not determined.

Таблица 2. Выявление нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС), вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2), парвовируса В19 (В19) в образцах плазмы с использованием наборов реагентов I и V

Table 2. Detection of nucleic acids of hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), human immunodeficiency virus (HIV-1, HIV-2), and parvovirus B19 (B19) in plasma samples using reagent kits I and V

Номер образца плазмы <i>Plasma sample No.</i>	Результат ПЦР с использованием набора реагентов <i>PCR results using</i>				
	Набор реагентов I <i>Reagent kit I</i>				Набор реагентов V <i>Reagent kit V</i>
	Выявляемый маркер <i>Detectable marker</i>				
	ДНК ВГВ <i>HBV DNA</i>	РНК ВГС <i>HCV RNA</i>	РНК ВИЧ-1 <i>HIV1 RNA</i>	РНК ВИЧ-2 <i>HIV2 RNA</i>	ДНК В19 <i>B19 DNA</i>
1, 2, 4–8	---	---	---	---	---
3	---	---	---	---	+++ (<10 ⁴)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Представлены результаты проведения ПЦР в трех повторностях. «+» — положительный результат ПЦР в одном испытании; «-» — отрицательный результат ПЦР в одном испытании.

Note. The table presents the results of PCR tests in three replicates. +, positive PCR result in one replicate; -, negative PCR result in one replicate.

с требованиями ЕФ¹³ в отношении выявления РНК ВГС и ДНК В19, для чего одновременно с образцами плазмы проводили испытания МСО и образцов плазмы с добавлением соответствующих МСО. Для определения РНК ВГС использовали в качестве дополнительного положительного контроля МСО РНК ВГС в концентрации 10² МЕ/мл и 10³ МЕ/мл, а также образцы плазмы с добавлением МСО РНК ВГС до той же концентрации в качестве дополнительного контроля эффективности выделения или отсутствия ингибирования реакции (табл. 3).

В образце плазмы № 6 с добавлением МСО РНК ВГС (табл. 3) целевая РНК не была выявлена даже в концентрации 10³ МЕ/мл, то есть в данной плазме могут присутствовать компоненты, оказывающие влияние на эффективность выделения РНК ВГС или ингибирующие реакцию, хотя соответствующие контрольные образцы из набора реагентов (ВКО и ПКО) это не обнаружили.

Результаты исследования показали, что использованная для получения данных таблицы 3 серия набора реагентов I как в образцах с разведениями МСО, так и в образце плазмы № 7 с добавленным МСО выявила РНК ВГС в трех испытаниях только в концентрации 10³ МЕ/мл; концентрация 10² МЕ/мл была определена только в одном из трех испытаний в отличие от результатов, полученных с МСО ранее с другой серией набора реагентов (табл. 1). Следовательно, чувствительность данной серии набора I не соответствует заявленной (аналитическая чувствительность должна составлять 10 МЕ/мл

при использовании 1 мл образца). В связи с этим провели испытание референс-панели с низким содержанием контрольных материалов ВГС, ВГВ и ВИЧ для ПЦР (концентрация нуклеиновых кислот в референс-панели не указана) с данной серией набора (табл. 4).

РНК ВГС выявлена только в одной повторности из трех; ДНК ВГВ выявлена во всех трех повторностях; РНК вируса ВИЧ не определена ни в одной повторности (табл. 4). Представленные данные могут служить подтверждением невозможности использования данной серии набора реагентов для обнаружения низкого содержания РНК ВГС из-за несоответствия заявленной чувствительности в отношении РНК ВГС, что делает актуальным контроль наборов реагентов для выявления нуклеиновых кислот трансмиссивных вирусов с использованием стандартных образцов, охарактеризованных в МЕ/мл, и проведение дальнейших исследований для установления критериев пригодности системы в МЕ/мл.

Результаты испытания образцов плазмы № 6 и 7 с МСО ДНК парвовируса В19 в концентрации 10³–10⁴ МЕ/мл, проведенные с набором реагентов V, представлены в таблице 5.

ДНК парвовируса В19 выявляется набором реагентов V с одинаковой эффективностью в концентрации 10³–10⁴ МЕ/мл как в МСО ДНК парвовируса В19, так и в присутствии образцов плазмы (табл. 5), то есть чувствительность данной серии набора соответствует заявленной и исследованные образцы плазмы не влияют

Таблица 3. Выявление РНК вируса гепатита С (ВГС) в образцах плазмы с учетом требований Европейской фармакопеи с использованием набора реагентов I

Table 3. Detection of hepatitis C virus (HCV) RNA in plasma samples using reagent kit I, taking into account the requirements of the European Pharmacopoeia

Выявление РНК ВГС в образцах плазмы <i>Detection of HCV RNA in plasma samples</i>		Выявление РНК ВГС в образцах плазмы с добавлением МСО РНК ВГС 18/184 в концентрации <i>Detection of HCV RNA in plasma samples spiked with HCV RNA IS 18/184 at a concentration of</i>		Выявление РНК ВГС в МСО РНК ВГС 18/184 в концентрации <i>Detection of HCV RNA in HCV RNA IS 18/184 at a concentration of</i>	
Номер образца плазмы <i>Plasma sample No.</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>	МЕ/мл <i>IU/mL</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>	МЕ/мл <i>IU/mL</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>
6	- - -	1000	- - -	1000	+ + +
		100	- - -		
7	- - -	1000	+ + +	100	+ - -
		100	+ - -		

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Представлены результаты проведения ПЦР в трех повторностях. «+» — положительный результат ПЦР в одном испытании; «-» — отрицательный результат ПЦР в одном испытании. МСО — международный стандартный образец.

Note. The table presents the results of PCR tests in three replicates. +, positive PCR result in one replicate; -, negative PCR result in one replicate. IS, International Standard.

¹³ Human plasma (pooled and treated for virus inactivation) 01/2021:1646. European Pharmacopoeia 11th ed., 2022.

Таблица 4. Выявление нуклеиновых кислот в референс-панели с низким содержанием контрольных материалов вирусов гепатита С (ВГС), гепатита В (ВГВ) и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2) с использованием набора реагентов I для выявления нуклеиновых кислот методом ПЦР

Table 4. Detection of nucleic acids in a reference panel of low positive control samples of hepatitis C virus (HCV), hepatitis B virus (HBV), and human immunodeficiency virus (HIV-1, HIV-2) using reagent kit I for nucleic acid detection by PCR

Наименование МСО <i>IS name</i>	Результаты ПЦР <i>PCR results</i>			
	Маркер вируса <i>Virus marker</i>			
	ДНК ВГВ <i>HBV DNA</i>	РНК ВГС <i>HCV RNA</i>	РНК ВИЧ-1 <i>HIV-1 RNA</i>	РНК ВИЧ-2 <i>HIV-2 RNA</i>
Референс-панель с низким содержанием РНК/ДНК ВГВ, ВГС, ВИЧ (Multiplex 14/198-XXX) <i>Low positive controls: RNA/DNA of HBV, HCV, and HIV (Multiplex 14/198-XXX)</i>	+++	+ --	---	---

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Представлены результаты проведения ПЦР в трех повторностях. «+» — положительный результат ПЦР в одном испытании; «-» — отрицательный результат ПЦР в одном испытании. МСО — международный стандартный образец.

Note. The table presents the results of PCR tests in three replicates. +, positive PCR result in one replicate; -, negative PCR result in one replicate. IS, International Standard.

на эффективность выделения и не ингибируют реакцию. Таким образом, в отношении ДНК парвовируса B19, в отличие от РНК ВГС, чувствительность наборов реагентов соответствовала заявленной, ингибирующие свойства исследованных образцов плазмы не обнаружены.

Анализ результатов проведенного исследования показал, что в восьми исследованных образцах плазмы с применением использованных наборов реагентов не выявлена РНК ВГС, а ДНК парвовируса B19 определена в одном образце плазмы из восьми (концентрация не превышала 10^4 МЕ/мл). При анализе соответствующих МСО использованные наборы реагентов в трех

испытаниях позволили выявить РНК ВГС в концентрации 10^2 МЕ/мл и ДНК парвовируса B19 (генотип M1) в концентрации 10^4 МЕ/мл.

Результаты испытаний двух образцов плазмы, проведенные дополнительно с учетом требований ЕФ при определении РНК ВГС и ДНК B19, показали, что с применением новой серии набора реагентов при выявлении РНК ВГС в МСО выявлена концентрация 10^2 МЕ/мл только в одном из трех испытаний, что не соответствует заявленной чувствительности набора реагентов. Кроме того, в одном из двух образцов плазмы РНК ВГС не была обнаружена ни в одном испытании с добавлением МСО РНК ВГС (до концентрации

Таблица 5. Выявление ДНК парвовируса B19 (B19) в образцах плазмы с учетом требований Европейской Фармакопеи с использованием набора реагентов V

Table 5. Detection of parvovirus B19 (B19) DNA in plasma samples using reagent kit V, taking into account the requirements of the European Pharmacopoeia

Выявление ДНК B19 в образцах плазмы <i>Detection of B19 DNA in plasma samples</i>		Выявление ДНК B19 в образцах плазмы с добавлением МСО ДНК B19 в концентрации <i>Detection of B19 DNA in plasma samples spiked with B19 RNA IS at a concentration of</i>		Выявление ДНК B19 в МСО ДНК B19 в концентрации <i>Detection of B19 DNA in B19 RNA IS at a concentration of</i>	
Номер образца плазмы <i>Plasma sample No.</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>	МЕ/мл <i>IU/mL</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>	МЕ/мл <i>IU/mL</i>	Результат ПЦР <i>PCR result</i>
6	---	10000	+++	10000	+++
		1000	+++		
7	---	10000	+++	1000	+++
		1000	+++		

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. Представлены результаты проведения ПЦР в трех повторностях. «+» — положительный результат ПЦР в одном испытании; «-» — отрицательный результат ПЦР в одном испытании. МСО — международный стандартный образец.

Note. The table presents the results of PCR tests in three replicates. +, positive PCR result in one replicate; -, negative PCR result in one replicate. IS, International Standard.

10² и 10³ МЕ/мл), что, возможно, связано с ингибирующими свойствами плазмы. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования контрольных образцов, охарактеризованных в международных единицах (МЕ/мл), при оценке вирусной безопасности.

Заключение

При применении метода ПЦР для оценки индивидуальных единиц субстанции «Плазма

человека для фракционирования», предназначенной для производства препаратов крови, по показателю качества «Вирусная безопасность» целесообразно использование контрольных образцов, охарактеризованных в международных единицах МЕ/мл. Для установления критериев пригодности системы с их применением необходимо продолжение исследований и разработка соответствующих фармакопейных стандартных образцов.

Литература/References

1. Попцов АЛ, Парамонов ИВ, Фетищева НЮ. Верификация методики выявления и количественного определения ДНК парвовируса В19 методом ПЦР в плазме для фракционирования. *Вестник Службы крови России*. 2014;(1):48–53. Poptsov AL, Paramonov IV, Fetishcheva NYu. Verification of the method for calculating and determining the amount of parvovirus B19 DNA by PCR in plasma for fractionation. *Bulletin of the Blood Service of Russia*. 2014;(1):48–53 (In Russ.). EDN: [SACMUR](#)
2. Филатова ЕВ, Зубкова НВ, Новикова НА, Голицына ЛН, Кузнецов КВ. Определение маркеров парвовируса В19 в образцах крови доноров. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010;(5):67–70. Filatova EV, Zubkova NV, Novikova NA, Golitsyna LN, Kuznetsov KV. Determination of parvovirus B19 markers in blood samples from donors. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2010;(5):67–70 (In Russ.). EDN: [VYZOAF](#)
3. Филатова ЕВ, Зубкова НВ, Короткова ТВ, Гальговская СА, Анастасиев ВВ. Оценка изменения концентрации ДНК парвовируса В19 при модельном фракционировании плазмы крови доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2011;56(3):10–4. Filatova EV, Zubkova NV, Korotkova TV, Galgovskaya SA, Anastasiev VV. Implication of changes in the concentration of parvovirus B19 DNA for model fractionation of donor plasma. *Hematology and Transfusiology*. 2011;56(3):10–4 (In Russ.). EDN: [NWGNUF](#)
4. Зубкова НВ, Казьянин АВ, Николаева АМ, Лаптева ЛК, Силин ЕВ. Алгоритм входного контроля вирусной безопасности сырья для производства лечебных препаратов из плазмы крови доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2012;57(1):9–13. Zubkova NV, Kazyanin AV, Nikolaeva AM, Lapteva LK, Silin EV. Development of virus safety control algorithm for the manufacture of donor plasma products. *Hematology and Transfusiology*. 2012;57(1):9–13 (In Russ.). EDN: [PEVZSL](#)
5. Зубкова НВ. Обеспечение инфекционной безопасности препаратов из плазмы крови доноров. *Гематология и трансфузиология*. 2014;59(2):44–9. Zubkova NV. Infection safety of donor plasma preparations. *Hematology and Transfusiology*. 2014;59(2):44–9 (In Russ.). EDN: [SNTITVT](#)
6. Парамонов ИВ, Попцов АЛ, Кудашева ЭЮ. Алгоритм исследования плазмы для фракционирования на наличие РНК вируса гепатита А. *Трансфузиология*. 2016;17(4):71–7. Paramonov IV, Poptsov AL, Kudasheva EYu. Plasma for fractionation essay for RNA of hepatitis a virus algorithm. *Transfusiology*. 2016;17(4):71–7 (In Russ.). EDN: [ZHKLUV](#)
7. Останкова ЮВ, Хамитова ИВ, Лаврентьева ИН, Семенов АВ. Способ выявления в биологическом материале ДНК вируса парвовирус В19 на основе двухэтапной ПЦР. Патент Российской Федерации № 2753310; 2019. Ostankova YuV, Khamitova IV, Lavrentieva IN, Semenov AV. Method for detecting parvovirus B19 in DNA biological material based on two-step PCR. Patent of the Russian Federation No. 2753310; 2019 (In Russ.). EDN: [AOLCQJ](#)
8. Zou W, Wang Z, Xiong M, Chen AY, Xu P, Ganaie SS, et al. Human parvovirus B19 utilizes cellular DNA replication machinery for viral DNA replication. *J Virol*. 2018;92(5):e01881-17. <https://doi.org/10.1128/jvi.01881-17>
9. Taconet L, Seifner A, Baylis SA, Chudy M, Kreß J, Mathys E, et al. Detection of hepatitis C virus and parvovirus B19 in human plasma pools by nucleic acid amplification techniques – Trends in results of EDQM proficiency testing studies from 2004 to 2018. *Biologicals*. 2021;71:9–19. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2021.04.004>
10. Toppinen M, Norja P, Aaltonen L-M, Wessberg S, Hedman L, Söderlund-Venermo M, Hedman K. A new quantitative PCR for human parvovirus B19 genotypes. *J Virol Methods*. 2015;218:40–5. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.03.006>
11. Игнатова ЕН, Туполева ТА, Овчинникова ЕН, Романова ТЮ, Ярославцева НГ, Филатов ФП и др. Влияние современных подходов к лабораторному обследованию доноров крови и ее компонентов на инфицированность вирусом гепатита В у больных с заболеваниями системы крови. *Терапевтический архив*. 2017;89(11):27–34. Ignatova EN, Tupoleva TA, Ovchinnikova EN, Romanova TYu, Yaroslavtseva NG, Filatov FP, et al. Impact of current approaches to laboratory screening of donated blood and its components on hepatitis b virus infection in patients with blood system diseases. *Therapeutic Archive*. 2017;89(11):27–34 (In Russ.). EDN: [ZWQSNR](#)

12. Бердюгина ОВ. Выявляемость нуклеиновых кислот вирусов гепатитов В и С методом ПЦР в рутинной клинической практике. В кн.: *Молекулярная диагностика. Сборник трудов*. Т. 1. М.: Юлис; 2021. С. 15–6.
Berdyugina OV. Detection of nucleic acids of hepatitis B and C viruses by PCR in routine clinical practice. In: *Molecular Diagnostics. Proceedings*. V. 1. Moscow: Yulis; 2021. P. 15–6 (In Russ.).
EDN: [EZEXKA](#)
13. O'Brien SF, Yi QL, Fan W, Scalia V, Goldman M, Fearon MA. Residual risk of HIV, HCV and HBV in Canada. *Transfus Apher Sci*. 2017;56(3):389–91.
<https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.03.010>
14. Ha J, Park Y, Kim HS. Evaluation of clinical sensitivity and specificity of hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus, and human immunodeficiency Virus-1 by cobas MPX: Detection of occult HBV infection in an HBV-endemic area. *J Clin Virol*. 2017;96:60–3.
<https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.09.010>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Е.В. Эльберт** — выполнение экспериментальных работ, обработка полученных данных, обсуждение результатов исследования, написание текста рукописи; **В.В. Ножко** — выполнение экспериментальных работ и обработка полученных данных, обсуждение результатов исследования; **Р.А. Волкова** — формирование задач исследования, планирование эксперимента, обсуждение результатов исследования, написание и редактирование текста рукописи; **А.А. Мовсисянц** — обсуждение результатов исследования; **В.А. Меркулов** — дизайн исследования, обсуждение результатов; **В.В. Косенко** — утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **E.V. Elbert** conducted experiments, processed the experimental data, discussed the study results, and drafted the manuscript. **V.V. Nozhko** conducted experiments, processed the experimental data, and discussed the study results. **R.A. Volkova** formulated the study objectives, designed the experiments, discussed the study results, and edited the manuscript. **A.A. Movsesyants** discussed the study results. **V.A. Merkulov** designed the study and discussed the study results. **V.V. Kosenko** approved the final version of the manuscript for publication.

Об авторах / Authors

Эльберт Елизавета Викторовна, канд. биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2737-948X>
Elbert@expmed.ru

Ножко Виталина Витальевна
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2617-1479>
MichailovaVV@expmed.ru

Волкова Рауза Асхатовна, д-р биол. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>
Volkova@expmed.ru

Мовсисянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2132-0962>
Movsesyants@expmed.ru

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>
Merkulov@expmed.ru

Косенко Валентина Владимировна, канд. фарм. наук
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
kosenko@expmed.ru

Elizaveta V. Elbert, Cand. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2737-948X>
Elbert@expmed.ru

Vitalina V. Nozhko
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2617-1479>
MichailovaVV@expmed.ru

Rauza A. Volkova, Dr. Sci. (Biol.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>
Volkova@expmed.ru

Artashes A. Movsesyants, Dr. Sci. (Med.), Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2132-0962>
Movsesyants@expmed.ru

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>
Merkulov@expmed.ru

Valentina V. Kosenko, Cand. Sci. (Pharm.)
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8353-7863>
kosenko@expmed.ru

Поступила 03.04.2023

После доработки 18.08.2023

Принята к публикации 13.09.2023

Received 3 April 2023

Revised 18 August 2023

Accepted 13 September 2023