

Оценка качества вакцины туляреминой живой по результатам испытаний в рамках обязательной сертификации

И. В. Касина¹, Л. И. Ращепкин², А. А. Горяев¹, С. А. Алексеева¹, Т. И. Немировская¹, А. А. Мовсисянц¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Федеральное казенное учреждение здравоохранения Медико-санитарная часть № 64

Федеральной службы исполнения наказаний, Саратов, Россия

Поступила 19.08.2016 г. Принята к публикации 17.11.2016 г.

В статье представлен анализ результатов испытаний, проведенных в ходе экспертизы качества вакцины туляреминой живой в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России в 2011–2015 гг. Из 34 серий вакцины, выпущенных в 2011 г., 14 серий не соответствовали требованиям нормативной документации (НД) по показателям: «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)», «Количество накожных доз» и «Термостабильность». Результаты экспериментальных исследований подтвердили нестандартность образцов серий вакцины туляреминой живой по показателям «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)», что, соответственно, приводит к различию тестируемых образцов вакцины по количеству накожных и внутрикожных доз. Подтверждено, что FT-агар является питательной средой, обеспечивающей все необходимые условия для культивирования вакцинного штамма *Francisella tularensis*. Анализируются возможные причины нестандартности качества серий, выпущенных в 2011 г. Результаты испытаний 93 серий туляреминой вакцины, произведенных в 2012–2015 гг., показали их полное соответствие требованиям НД. Стабильное обеспечение качества туляреминой вакцины послужило основанием для возможности выбора, аттестации и утверждения новых серий препарата в качестве отраслевых стандартных образцов.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*; вакцина туляреминая живая; нормативная документация; специфическая активность; процент живых микробных клеток; концентрация микробных клеток; количество накожных доз; термостабильность; колониеобразующая единица; отраслевой стандартный образец.

Библиографическое описание: Касина ИВ, Ращепкин ЛИ, Горяев АА, Алексеева СА, Немировская ТИ, Мовсисянц АА. Оценка качества вакцины туляреминой живой по результатам испытаний в рамках обязательной сертификации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016;16 (4): 253–259.

Туляремия — острое природно-очаговое инфекционное заболевание из группы бактериальных зоонозов, которое вызывается бактерией *Francisella tularensis*, протекающее с интоксикацией, лихорадкой, развитием лимфаденита и поражением различных органов. Относится к группе особо опасных инфекционных болезней, так как возбудитель туляремии является патогенным биологическим агентом (ПБА) II группы. Одной из характерных эпидемиологических особенностей туляремии является почти 100 % восприимчивость к ней человека без различия в возрасте, кроме того, больные люди не представляют опасности для здоровых. В результате перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет [1–5].

Природные очаги туляремии распространены на всех континентах Северного полушария в Европе, Азии и Северной Америке, заболевания людей регистрируются в виде спорадических случаев и эпидемических вспышек [6, 7]. В России туляремия постоянно обнаруживается практически на всей территории [1, 8, 9]. В 90-е годы прошлого века в нашей стране ежегодно диагностировалось от 100 до 400 случаев заболевания людей. В 2000–2011 гг. заболеваемость в России существенно снизилась и составляла 50–123 случаев в год, что не исключает возникновение вспышек, охватывающих несколько сотен человек, как это произошло в 2005 г., и более 1000 — в 2013 г. в результате обострения эпизоотического процесса в природном очаге туляремии [8, 9].

В настоящее время иммунизация является самым надежным способом профилактики туляремии. Для про-

филактики заболевания в России используется туляреминая вакцина, представляющая собой живую культуру вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, лиофилизированного в стабилизирующей среде. Вакцинация рекомендована населению с 7-летнего возраста, проживающему на энзоотических по туляремии территориях, а также по эпидемическим показаниям. Туляреминая вакцина через 20–30 суток после прививки обеспечивает развитие стойкого иммунитета продолжительностью до 5 лет [1, 3]. В Российской Федерации против туляремии ежегодно подлежит вакцинации более 300 тыс. и ревакцинации более 1 млн человек [9]. Соответственно, постоянный контроль качества туляреминой вакцины является неотъемлемой составляющей системы вакцинопрофилактики.

Цель работы — оценка качества вакцины туляреминой живой по результатам сертификационных испытаний в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России за период 2011–2015 гг.

В задачи исследования входило проведение испытаний вакцины туляреминой живой в соответствии с требованиями НД Р N002348/01-010212, анализ полученных результатов и выбор серий вакцины в качестве кандидатов в отраслевые стандартные образцы (ОСО).

Материалы и методы

В Испытательном центре экспертизы качества МИБП проведены испытания 127 серий вакцины туляреминой живой. Серии вакцины, выпущенные в 2011 г., условно обозначены под номерами 1–14, в 2012 г. — под номерами

15–64, в 2013 г. — под номерами 65–75, в 2014 г. — под номерами 76–92, в 2015 г. — под номерами 93–107.

Испытания проводили в строгом соответствии с методами, указанными в НД на лекарственный препарат по показателям: «Описание», «Подлинность», «Время растворения», «рН», «Время седиментационной устойчивости», «Размер частиц», «Потеря в массе при высушивании», «Точность розлива», «Вакуум, герметизация», «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов», «Специфическая безопасность», «Специфическая активность (концентрация микробных клеток; процент живых микробных клеток, степень диссоциации)», «Количество накожных доз», «Прививаемость» и «Термостабильность».

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Одним из основных показателей качества вакцины является «Специфическая активность», обусловленная общей концентрацией микробных клеток и процентом живых микробных клеток. На основании результатов, полученных по данному показателю, определяется количество накожных и внутрикожных доз вакцины в ампуле. Штаммы *F. tularensis* особо требовательны к условиям культивирования, они не растут на питательных средах широкого применения — мясо-пептонных агаре и бульоне, агаре и бульоне Хоттингера. Оптимальными условиями для их культивирования являются слабощелочные агаровые или желточчные среды с добавлением цистеина, кроличьей дефибринированной крови, тканевых экстрактов и других стимуляторов роста [2, 3, 10, 11]. Используемая нами питательная среда для культивирования и выделения туляремийного микроба (FT-агар) изготовлена на основе сернокислотного гидролизата рыбной муки с цистеином, стимулятором роста гемофильных бактерий и глюкозо-витаминной добавкой (глюкоза, тиамин хлорид, кальция пантотенат). FT-агар по ростовым свойствам соответствовал требованиям НД: при посеве 10 м.к. вакцинного штамма *F. tularensis* обеспечивал рост единичных (от 4 до 8) колоний, а при посеве 100 м.к. — от 60 до 80 % от посевной дозы.

При экспертизе качества 34 серий вакцины, выпущенных в 2011 г., у 14 серий были выявлены несоответствия требованиям НД по показателю «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)». Содержание живых микробных клеток было ниже нормы (менее 40 % от общего количества). Но при этом по показателю «Специфическая активность (концентрация микробных клеток)» все серии соответствовали требованиям НД (табл. 1).

По показателям качества: «Описание», «Подлинность», «Время растворения», «рН», «Время седиментационной устойчивости», «Размер частиц», «Потеря в массе при высушивании», «Точность розлива», «Вакуум, герметизация», «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов», «Специфическая безопасность», «Прививаемость» и «Термостабильность» все испытываемые серии вакцины соответствовали требованиям НД.

Достоверность полученных результатов несоответствия серий требованиям НД по показателю «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)» была подтверждена проведением двукратных испытаний. Как видно из результатов, представленных в таблице 1, в образцах серий вакцины № 1, 2, 5, 6 и 10 содержание живых микробных клеток было недостаточным и не составило су-

щественной разницы в результате повторного испытания (от 18 до 29 %). В сериях вакцины № 12, 13 и 14 выявлены значительные колебания (от 0,2 до 69 %) содержания живых микробных клеток в разных образцах. В сериях № 3, 4, 9 и 11 при низком содержании живых микробных клеток в среднем по трем образцам отмечалась двукратная и более разница между результатами двух испытаний, например, в серии № 11 количество живых микробных клеток в первом испытании составило 23 % и только 1,5 % — во втором испытании. Самое низкое содержание живых микробных клеток обнаружено в образцах серий вакцины № 7 и 8 (от 5 до 10 %) и подтверждено повторными испытаниями. Количество накожных и внутрикожных доз, вводимых людям, является расчетной величиной, зависящей от содержания живых микробных клеток в образце. В связи с отмеченной нестандартностью тестируемых образцов вакцины, количество иммунизирующих доз в них было или недостаточным или значительно превышало норму. В итоге эти серии также не соответствовали требованиям НД по показателю «Количество накожных доз».

Кроме того, из шести серий вакцины, представленных на испытания по всем показателям, в четырех сериях было выявлено несоответствие требованиям НД по показателю «Термостабильность» (табл. 2). Показатель термостабильности — это срок (не менее 7 сут), в течение которого в препарате сохраняется 50 % живых микробных клеток от их первоначального количества после хранения образцов вакцины при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Испытание по показателю «Термостабильность» проводилось по методике определения процента живых микробных клеток после хранения образцов вакцины при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 14 сут. Далее показатель «Термостабильность» препарата в сутках рассчитывался по формуле, в которой учитывается первоначальное среднее количество живых микробных клеток, среднее количество живых микробных клеток после хранения образцов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и срок хранения — 14 сут. Как видно из результатов, представленных в таблице 2, показатели содержания живых микробных клеток подтверждают нестандартность представленных образцов.

В ходе испытаний также было отмечено отличие внешнего вида некоторых образцов восстановленной вакцины друг от друга: сразу после внесения 0,9 % раствора натрия хлорида в одних образцах суспензия была однородной и равномерно взвешенной, в других наблюдались гелеобразные включения. После перемешивания в течение регламентированного времени растворения в соответствии с НД (3 мин) различия восстановленного препарата нивелировались.

В процессе поиска причин полученных несоответствий нами был проведен ряд дополнительных экспериментальных исследований. В FT-агар в качестве дополнительных стимуляторов роста поочередно вносили: гемолизированную лошадиную кровь до конечной концентрации 5 %; дефибринированную кроличью кровь до конечной концентрации 5 %; увеличивали содержание глюкозы в питательной среде до концентрации 10 % вместо регламентированных 6 %. Однако внесение в среду различных обогащающих добавок не повлияло на результаты испытаний по показателю «Специфическая активность (про-

цент живых микробных клеток)». При сравнительном высеве образцов вакцины на питательные среды, как с дополнительными добавками, так и без них, было получено идентичное количество колониеобразующих единиц (КОЕ). Таким образом, нами было подтверждено, что ФТ-агар является оптимальной питательной средой, обеспечивающей все необходимые условия для культивирования вакцинного штамма *F. tularensis*.

С целью оценки объективности полученных результатов проводились параллельные высевы вакцины из одного образца (объединение содержимого двух ампул) и из одной ампулы в условиях промежуточной прецизионности (двумя сотрудниками), а также высев содержимого одного образца в полном объеме. Результаты, полученные сотрудниками, во всех опытах показали незначительные колебания (от 5 до 12 %), высокую воспроизводимость при повторных испытаниях и подтвердили большой разброс содержания живых микробных клеток (от 4 до 82 %) и накожных доз (от 1 до 82, при норме от 15 до 50) в образцах и ампулах одной серии.

Результаты проведенных нами исследований подтвердили нестандартность серий туляреминой вакцины по показателям «Специфическая активность (процент жи-

вых микробных клеток)», «Количество накожных доз» и «Термостабильность». В итоге из 34 серий вакцины, выпущенных в 2011 г., — 14 серий (41 %) были признаны несоответствующими требованиям НД.

Из вышеизложенного следует, что возможными причинами получения нестандартных серий туляреминой вакцины по показателям «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)», «Количество накожных доз» и «Термостабильность» могли послужить нарушения технологии производства в процессе лиофилизации или неравномерное перемешивание вакцины при ее розливе.

Анализируя результаты испытаний 93 серий туляреминой вакцины, выпущенных в 2012–2015 гг., следует отметить, что все серии препарата после первого испытания соответствовали требованиям НД, в том числе и по показателю «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)» (табл. 2). В среднем по сериям общая концентрация микробных клеток составила $1,6 \cdot 10^{10}$ при двух стандартных отклонениях 0,4, что соответствовало норме — $(2 \pm 1) \cdot 10^{10}$ м.к./мл. При этом количество живых микробных клеток в них в среднем получилось 49 %, при

Таблица 1. Результаты испытания по показателю «Специфическая активность» вакцины туляреминой живой, выпущенной в 2011 г.

Образцы серий № п/п	Испытание	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	1-й образец (объединение двух ампул)		2-й образец (объединение двух ампул)		3-й образец (объединение двух ампул)		% ж.м.к. ² (средний по трем образцам)
			% ж.м.к. ²	Кол-во накожных доз ³	% ж.м.к. ²	Кол-во накожных доз ³	% ж.м.к. ²	Кол-во накожных доз ³	
1	1	$1,77 \cdot 10^{10}$	21	18	19	17	13	12	17,5
	2	$1,77 \cdot 10^{10}$	34	30	34	30	19	16	29
2	1	$1,6 \cdot 10^{10}$	24	19	29	23	26	20	26
	2	$1,7 \cdot 10^{10}$	12	10	34	28	25	21	24
3	1	$1,8 \cdot 10^{10}$	30	28	29	26	29	26	29,4
	2	$1,77 \cdot 10^{10}$	8,5	7	3	3	1,5	1	4
4	1	$1,9 \cdot 10^{10}$	30	30	26	25	26	25	27,4
	2	$1,9 \cdot 10^{10}$	11	11	9	9	15	14	12
5	1	$1,7 \cdot 10^{10}$	25	22	22	19	24	21	23,5
	2	$1,7 \cdot 10^{10}$	25	21	20	17	17	14	20,6
6	1	$1,7 \cdot 10^{10}$	10	8	20	17	23	20	18
	2	$1,7 \cdot 10^{10}$	15	12	17	15	17	15	16
7	1	$1,7 \cdot 10^{10}$	10	8	13	11	8	6	10,2
	2	$1,77 \cdot 10^{10}$	11	9	7	6	10	8	9
8	1	$1,8 \cdot 10^{10}$	10	9	7	6	6	5	7
	2	$1,96 \cdot 10^{10}$	4	3	3	3	7	6	5
9	1	$1,33 \cdot 10^{10}$	11	7	8	5	16	11	11
	2	$1,33 \cdot 10^{10}$	11	7	17	11	32	21	20
10	1	$1,1 \cdot 10^{10}$	23	12	15	8	32	16	23,3
	2	$1,2 \cdot 10^{10}$	1	1	35	28	24	13	20
11	1	$1,364 \cdot 10^{10}$	25	17	15	10	29	19	23
	2	$1,43 \cdot 10^{10}$	2	2	2	1	1	1	1,5
12	1	$1,8 \cdot 10^{10}$	19	19	26	22	46	42	31
	2	$2,2 \cdot 10^{10}$	69	80	1	1	1	1	24
13	1	$1,67 \cdot 10^{10}$	61	48	1,5	1	12	10	26
	2	$1,5 \cdot 10^{10}$	48	40	30	21	0,2	0,3	26
14	1	$1,67 \cdot 10^{10}$	33	25	9,4	8	0,6	1	14,3
	2	$1,7 \cdot 10^{10}$	1	1	33	28	51	43	28,2

¹ Норма: $(2 \pm 1) \cdot 10^{10}$ м.к./мл.

² Процент живых микробных клеток (% ж.м.к.) (норма: не менее 40 %).

³ Количество накожных доз (норма: от 15 до 50).

Таблица 2. Результаты испытания по показателю «Термостабильность» вакцины туляремийной живой, выпущенной в 2011 г.

Образцы серий № п/п	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	% ж.м.к. ² 1-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² 2-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² 3-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² (средний по трем образцам)	Показатель «Термостабильность», сут ³
1	1,5·10 ¹⁰	2	1	6	3	4,2
2	1,5·10 ¹⁰	4	5	3	4	5
3	1,1·10 ¹⁰	0	0	1	1	1,3
4	2,0·10 ¹⁰	2	1	1	1	3

¹ Норма: (2±1)·10¹⁰ м.к./мл.² Процент живых микробных клеток (% ж.м.к.).³ Норма: не менее 7 сут.**Таблица 3.** Результаты испытания по показателю «Специфическая активность» вакцины туляремийной живой, выпущенной в 2012–2015 гг.

Образцы серий № п/п	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	% ж.м.к. ² (средний по трем образцам)	Образцы серий № п/п	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	% ж.м.к. ² (средний по трем образцам)	Образцы серий № п/п	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	% ж.м.к. ² (средний по трем образцам)
15	2,0·10 ¹⁰	62	46	1,9·10 ¹⁰	59	77	1,55·10 ¹⁰	50
16	1,3·10 ¹⁰	50	47	1,8·10 ¹⁰	54	78	1,52·10 ¹⁰	46
17	1,8·10 ¹⁰	49	48	1,7·10 ¹⁰	43	79	1,5·10 ¹⁰	43
18	1,6·10 ¹⁰	42	49	1,8·10 ¹⁰	46	80	1,5·10 ¹⁰	43
19	1,4·10 ¹⁰	47	50	1,8·10 ¹⁰	51	81	1,6·10 ¹⁰	49
20	1,4·10 ¹⁰	52	51	1,9·10 ¹⁰	54	82	1,5·10 ¹⁰	42
21	1,7·10 ¹⁰	53	52	1,9·10 ¹⁰	45	83	1,6·10 ¹⁰	44
22	1,6·10 ¹⁰	62	53	1,8·10 ¹⁰	43	84	1,8·10 ¹⁰	44
23	1,6·10 ¹⁰	51	54	1,6·10 ¹⁰	52	85	2,0·10 ¹⁰	43
24	1,7·10 ¹⁰	47	55	1,6·10 ¹⁰	44	86	1,6·10 ¹⁰	45
25	1,8·10 ¹⁰	47	56	1,6·10 ¹⁰	49	87	1,5·10 ¹⁰	51
26	1,3·10 ¹⁰	46	57	1,9·10 ¹⁰	55	88	1,3·10 ¹⁰	43
27	1,6·10 ¹⁰	42	58	1,8·10 ¹⁰	50	89	1,3·10 ¹⁰	45
28	1,3·10 ¹⁰	53	59	2,0·10 ¹⁰	52	90	1,4·10 ¹⁰	50
29	1,4·10 ¹⁰	41	60	1,5·10 ¹⁰	54	91	1,5·10 ¹⁰	47
30	1,8·10 ¹⁰	51	61	1,6·10 ¹⁰	62	92	1,3·10 ¹⁰	47
31	1,8·10 ¹⁰	54	62	1,5·10 ¹⁰	50	93	1,0·10 ¹⁰	49
32	1,9·10 ¹⁰	45	63	1,5·10 ¹⁰	48	94	1,6·10 ¹⁰	47
33	1,8·10 ¹⁰	41	64	1,3·10 ¹⁰	49	95	1,6·10 ¹⁰	46
34	1,7·10 ¹⁰	44	65	1,5·10 ¹⁰	54	96	1,7·10 ¹⁰	43
35	1,7·10 ¹⁰	46	66	1,5·10 ¹⁰	54	97	1,2·10 ¹⁰	44
36	2,1·10 ¹⁰	44	67	1,7·10 ¹⁰	54	98	1,2·10 ¹⁰	50
37	2,0·10 ¹⁰	60	68	1,5·10 ¹⁰	48	99	1,2·10 ¹⁰	44
38	2,0·10 ¹⁰	51	69	1,7·10 ¹⁰	57	100	1,4·10 ¹⁰	50
39	1,5·10 ¹⁰	53	70	1,5·10 ¹⁰	51	101	1,5·10 ¹⁰	49
40	1,7·10 ¹⁰	59	71	1,5·10 ¹⁰	48	102	1,9·10 ¹⁰	47
41	1,5·10 ¹⁰	48	72	1,8·10 ¹⁰	58	103	1,4·10 ¹⁰	63
42	2,0·10 ¹⁰	42	73	1,6·10 ¹⁰	52	104	1,5·10 ¹⁰	43
43	2,2·10 ¹⁰	43	74	1,7·10 ¹⁰	54	105	1,3·10 ¹⁰	55
44	1,6·10 ¹⁰	52	75	1,6·10 ¹⁰	43	106	1,5·10 ¹⁰	65
45	1,8·10 ¹⁰	43	76	1,57·10 ¹⁰	42	107	1,5·10 ¹⁰	43

¹ Норма: (2±1)·10¹⁰ м.к./мл.² Процент живых микробных клеток (% ж.м.к.) (норма: не менее 40 %).

Таблица 4. Результаты испытания по показателю «Термостабильность» вакцины туляреминой живой, выпущенной в 2012–2015 гг.

Образцы серий № п, п	Общая концентрация м.к./мл ¹ (среднее по трем образцам)	% ж.м.к. ² 1-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² 2-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² 3-й образец (объединение двух ампул)	% ж.м.к. ² (по трем образцам)	Показатель «Термостабильность», сут ³
1	1,5·10 ¹⁰	24	26	20	23	15
2	1,3·10 ¹⁰	23	20	22	21	8
3	1,2·10 ¹⁰	37	32	17	29	15
4	1,6·10 ¹⁰	16	23	25	21	9
5	1,8·10 ¹⁰	16	15	17	16	8
6	1,5·10 ¹⁰	16	20	24	20	11
7	1,3·10 ¹⁰	21	20	19	20	7
8	1,5·10 ¹⁰	29	27	24	27	10
9	1,3·10 ¹⁰	31	25	30	28	13
10	1,4·10 ¹⁰	37	26	21	28	10
11	1,3·10 ¹⁰	38	31	24	31	15
12	1,3·10 ¹⁰	26	19	31	25	12
13	1,4·10 ¹⁰	16	12	15	14	8
14	1,5·10 ¹⁰	25	30	26	27	14
15	1,3·10 ¹⁰	14	16	15	15	7
16	1,2·10 ¹⁰	24	18	16	20	9
17	1,2·10 ¹⁰	28	26	29	28	12
18	1,3·10 ¹⁰	14	15	15	15	7
19	1,3·10 ¹⁰	14	15	14	14	8

¹ Норма: (2±1)·10¹⁰ м.к./мл.² Процент живых микробных клеток (% ж.м.к.).³ Норма: не менее 7 сут.

стандартном отклонении 5,6 %, двух стандартных отклонениях 11,2 %, что также соответствовало норме — не менее 40 %. Особенно важно отметить, что колебания количества живых микробных клеток в образцах одной серии были в пределах 10–15 %, что соответствовало допустимым изменениям (не более 20 %). Соответствие образцов серий по содержанию живых микробных клеток свидетельствует об их соответствии требованиям НД по показателю «Количество накожных доз». Содержание прививочных доз в них находилось в пределах нормы — от 15 до 50. Результаты наших испытаний по этим показателям практически совпали с паспортными данными представленных серий от производителя. В ходе испытаний было также отмечено, что после внесения 0,9 % раствора натрия хлорида в ампулу, вакцина полностью растворялась в течение 1 мин при встряхивании, суспензия была однородной и равномерно взвешенной. Из 19 серий вакцины, представленных на испытания по всем показателям, показатель «Термостабильность» также находился в пределах нормы (от 7 до 15 сут), что подтверждает стандартность образцов по количеству живых микробных клеток (табл. 4).

Стабильное обеспечение стандартности качества туляреминой вакцины по показателям «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)», «Количество накожных доз» и «Термостабильность» послужило основанием для возможности выбора, аттестации и утверждения новых серий препарата в качестве отраслевых стандартных образцов в 2014 г. (ОСО 42-28-398–2014) и в 2016 г. (ОСО 42-28-398–2016). Основной аттестованной характеристикой ОСО туляреминой вакцины является показатель «Специфическая активность (концентрация микробных клеток; процент живых микробных клеток)» [12]. Аттестованное значение стандартного образца вакцины

(ОСО 42-28-398–2014) по показателю «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)» при доверительной вероятности 0,95 составило (54,0±11,7) %, а ОСО 42-28-398–2016 — (46,0±5,8) %.

Выводы

1. За период с 2011 по 2015 г. в Испытательном центре экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России были проведены испытания 127 серий вакцины туляреминой живой, представленных с целью подтверждения их качества на соответствие требованиям НД.

2. Результаты испытаний позволили сделать вывод о нестандартности образцов серий вакцины, выпущенных в 2011 г., что могло быть обусловлено нарушениями технологии производства. Предположительно причиной могли стать нарушения технологии производства в процессе лиофилизации или неравномерное перемешивание вакцины при ее розливе.

3. Серии туляреминой вакцины, выпущенные в 2012–2015 гг., соответствовали требованиям НД по всем показателям, включая показатели: «Специфическая активность (процент живых микробных клеток)», «Количество накожных доз» и «Термостабильность».

4. Проведен выбор серий препарата для аттестации в качестве отраслевого стандартного образца в 2014 г. (ОСО 42-28-398–2014) и в 2016 г. (ОСО 42-28-398–2016).

Литература

1. Олсуфьев НГ, Дунаева ТН. Природная очаговость. Эпидемиология и профилактика туляремии. М.; 1970.
2. Олсуфьев НГ. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.; 1975.

3. Мещерякова ИС. Таксономия, идентификация и иммунологическая диагностика туляремии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1990.
4. Harik NS. Tularemia: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Pediatric Annals* 2013; 42(7): 288–92.
5. Sjöstedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. *Annals NY Acad Sci.* 2007; 1105: 1–29.
6. WHO Guidelines on Tularaemia. WHO/CDS/EPR/2007.7 [Internet]. 2007 [cited 2013 Feb 12]. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_7.pdf.
7. Tularemia — United States, 2001–2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013; 62(47): 963–6.
8. Косилко СА, Балахонев СВ, Бренёва НВ, Чеснокова МВ, Андаев ЕИ, Носков АК и др. Эпидемиологическая ситуация по зоонозным, природно-очаговым инфекционным болезням в Сибири и на Дальнем Востоке в 2013 г. и прогноз на 2014 г. *Проблемы особо опасных инфекций* 2014; (2): 53–7.
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2014. Available from: http://rospotrebnadzor.ru/bitrix/redirect.php?event1=file&event2=download&event3=gd_2013_dlya-sayta.pdf&goto=/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf.
10. Поздеев ОК. Медицинская микробиология. М.; 2004.
11. Методические указания «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней». МУК 4.2.2939–11. М.; 2011.
12. Касина ИВ, Горяев АА, Рашепкин ЛИ, Фадейкина ОВ, Немировская ТИ, Устинникова ОБ и др. Аттестация и продление срока годности новой серии отраслевого стандартного образца специфической активности и иммуногенности вакцины туляреминой живой. *Биопрепараты* 2015; (4): 32–8.

Об авторах

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

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

Горяев Артем Анатольевич. Заместитель начальника управления экспертизы противобактериальных МИБП, канд. биол. наук.

Алексеева Светлана Александровна. Эксперт 1-й категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

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

Мовсесянц Арташес Авакович. Начальник Испытательного центра экспертизы качества МИБП, д-р мед. наук, профессор.

Федеральное казенное учреждение здравоохранения Медико-санитарная часть № 64 Федеральной службы исполнения наказаний. Российская Федерация, 410028, г. Саратов, ул. Рабочая, 18.

Рашепкин Леонид Иванович. Начальник бактериологической лаборатории по диагностике туберкулеза филиала «Туберкулезная больница».

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

Live tularemia vaccine quality assessment according to test results under the mandatory certification

I. V. Kasina¹, L. I. Raschepkin², A. A. Goryaev¹, S. A. Alekseeva¹, T. I. Nemirovskaya¹, A. A. Movsesyants¹

¹ Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia

² Federal Government Healthcare Institution Medical Unit № 64

of the Federal Service for Corrections, Saratov, Russia

The results of the tests for the quality assessment of live tularemia vaccine under the Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation in 2011–2015 were analyzed in the present article. There were 14 batches (of 34) which did not comply with the requirements of regulatory documents (RD) in terms of «Specific activity (percentage of live microbial cells)», «Number of cutaneous doses» and «Thermal stability». The experimental results had confirmed the irregularity of tularemia vaccine batch samples in terms of «Specific activity (percentage of live microbial cells)» which, respectively, led to differences in vaccine samples in terms of the number of cutaneous and intradermal doses. It was confirmed that FT-agar is a nutrient providing all the necessary conditions for cultivating *Francisella tularensis* strain. Possible causes of irregular quality of the batches released in 2011 was considered in the present article. Test results for 93 batches of tularemia vaccine manufactured in 2012–2015 shown their full compliance with the requirements of RD. Consistent quality assurance of tularemia vaccine became the basis for the possibility of choice, certification and approval of new drug batches as industrial reference standards.

Key words: *Francisella tularensis*; live tularemia vaccine; regulatory documents; specific activity; percentage of live microbial cells; concentration of microbial cells; number of cutaneous doses; thermal stability; colony forming unit; growth media for cultivation and isolation of tularemia microbe (FT-agar); industry reference standard.

For citation: Kasina IV, Raschepkin LI, Goryaev AA, Alekseeva SA, Nemirovskaya TI, Movsesyants AA. Live tularemia vaccine quality assessment according to test results under the mandatory certification. *Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (4): 253–259.

References

1. Olsufiev NG, Dunaeva TN. *Natural foci. Epidemiology and prevention of tularemia*. Moscow; 1970 (in Russian).
2. Olsufiev NG. *Taxonomy, microbiology and laboratory diagnosis of tularemia pathogen*. Moscow; 1975 (in Russian).
3. Mescheryakova IS. *Taxonomy, identification and immunological diagnosis of tularemia*. Dr. Med. Sci [thesis]. Moscow; 1990 (in Russian).
4. Harik NS. *Tularemia: epidemiology, diagnosis, and treatment*. *Pediatric Annals* 2013; 42(7): 288–92.
5. Sjöstedt A. *Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations*. *Annals NY Acad Sci*. 2007; 1105: 1–29.
6. WHO Guidelines on Tularemia. WHO/CDS/EPR/2007.7 [Internet]. 2007 [cited 2013 Feb 12]. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/WHO_CDS_EPR_2007_7.pdf.
7. *Tularemia — United States, 2001–2010*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2013; 62(47): 963–6.
8. Kosilko SA, Balakhonov SV, Breneva NV, Chesnokova MV, Andaev EI, Noskov AK, et al. *Epidemiological situation on zoonotic and natural-focal infectious diseases in Siberia and Far East in 2013; prognosis for 2014*. *Problemy osobo opasnyh infektsiy* 2014; (2): 53–7 (in Russian).
9. *On the status of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2013: State Report*. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare; 2014. Available from: http://rospotrebnadzor.ru/bitrix/redirect.php?event1=file&event2=download&event3=gd_2013_dlya-sayta.pdf&goto=/upload/iblock/3b8/gd_2013_dlya-sayta.pdf (in Russian).
10. Pozdeev OK. *Medical Microbiology*. Moscow; 2004 (in Russian).
11. *Guidelines «Procedure for organizing and conducting tularemia laboratory diagnostics laboratory territorial, regional and federal levels»*. MUK 4.2.2939–11. Moscow; 2011 (in Russian).
12. Kasina IV, Goryaev AA, Rashchepkin LI, Fadeykina OV, Nemirovskaya TI, Ustinnikova OB, et al. *Certification and shelf-life extension of a new batch of the branch reference standard for live tularemia vaccine's specific activity and immunogenicity*. *Biopreparation* 2015; (4): 32–8 (in Russian).

Authors

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

Kasina IV. Leading expert of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center for Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Goryaev AA. Deputy head of Office for expertise of antibacterial medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Alekseeva SA. 1st professional category expert of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center for Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Biological Sciences.

Nemirovskaya TI. Head of Laboratory of bacterial vaccines of Test Center for Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Candidate of Medical Sciences.

Movsesyants AA. Head of Test Center for Quality Expertise of medical immunobiological preparations. Doctor of Medical Sciences, professor.

Federal State Health Agency Health Service № 64 of the Federal Penitentiary Service of Russia, Rabochaya street 18, Saratov 410028, Russian Federation.

Raschepkin LI. Head of the bacteriological laboratory for the diagnosis of tuberculosis of the branch «Tuberculosis Hospital».