

БИО ПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Том 18, № **4**
Октябрь – декабрь 2018



В НОМЕРЕ

Определение вирусных нуклеиновых кислот в крови человека

Оценка стабильности производства коклюшного компонента АКДС-вакцины по показателям иммуногенной активности и специфической безопасности с использованием карт Шухарта

Журнал индексируется в базе данных
«Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).
Пятилетний импакт-фактор РИНЦ — 0,462
(без самоцитирования).

Архив журнала размещен в российских
и международных базах научного цитирования —
научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU,
Российской государственной библиотеке,
«Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ),
«КиберЛенинка», «Соционет», каталогах Национальной
Медицинской Библиотеки США (NLM каталог), Directory
of Open Access Journals (DOAJ), Dimensions, Академии
Google (Google Scholar), Bielefeld Academic Search Engine
(BASE), WorldCat, Open Archives Initiative, Research Bible.

К публикации принимаются
только статьи, подготовленные в соответствии
с правилами для авторов, размещенными
на сайте журнала (<http://www.biopreparations.ru>).

Все статьи проходят рецензирование
двумя рецензентами. Используется модель
двойного слепого рецензирования.

Плата за публикацию статьи и рецензирование
рукописи не взимается.
Ускоренная публикация не допускается.
Материалы заочных конференций не публикуются.

Журнал выходит 4 раза в год.

ISSN 2221-996X (Print)
ISSN 2619-1156 (Online)

БИО ПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал
Федерального государственного бюджетного учреждения
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Том 18, № 4
Октябрь – декабрь 2018

BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie
[BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]

Peer-reviewed scientific and practical journal of
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Volume 18, No. 4
October – December 2018

«БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» — журнал ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Создан в 2001 г. как периодическое научное издание Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича. В журнале рассматриваются вопросы разработки, стандартизации, контроля качества, производства и применения медицинских биологических препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, а также диагностики инфекционных, аллергических и иммунопатологических процессов.

В журнале публикуются обзорные и оригинальные статьи, область исследований которых соответствует **медицинской и биологической отраслям науки** и следующим группам специальностей: **03.01.00 Физико-химическая биология, 14.01.00 Клиническая медицина, 14.03.00 Медико-биологические науки.**



Л. А. Тарасевич

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Олефир Юрий Витальевич, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Меркулов Вадим Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Бондарев Владимир Петрович, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Авдеева Жанна Ильдаровна, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Амвросьева Тамара Васильевна, доктор медицинских наук, профессор (Минск, Республика Беларусь)

Бакулин Михаил Константинович, доктор медицинских наук, профессор (Киров, Россия)

Борисевич Игорь Владимирович, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Волчков Виктор Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор (Лион, Франция)

Воробьева Мая Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Дармов Илья Владимирович, доктор медицинских наук, профессор (Киров, Россия)

Дегтярев Сергей Харитонович, доктор биологических наук, профессор (Новосибирск, Россия)

Иванов Вячеслав Борисович, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Игнатьев Георгий Михайлович, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Леви Диана Тимофеевна, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Мовсесянц Арташес Авакович, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Мосягин Вячеслав Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор (Москва, Россия)

Пащенко Юрий Иванович, доктор биологических наук, профессор (Сергиев Посад, Московская область, Россия)

Хамитов Равиль Авгатович, доктор медицинских наук, профессор (Вольгинский, Владимирская область, Россия)

Чумаков Константин Михайлович, доктор биологических наук (Силвер-Спринг, Мэриленд, США)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Климов Владимир Иванович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Борисевич Сергей Владимирович, доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН

(Сергиев Посад, Московская область, Россия)

Брико Николай Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Гинцбург Александр Леонидович, доктор биологических наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Дятлов Иван Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

(Оболensk, Московская область, Россия)

Зверев Виталий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Кутырев Владимир Викторович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Саратов, Россия)

Львов Дмитрий Константинович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Медуницын Николай Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Михайлов Михаил Иванович, доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН (Москва, Россия)

Покровский Валентин Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Савченко Валерий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Учайкин Василий Федорович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

Хаитов Рахим Мусаевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН (Москва, Россия)

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

Гойкалова Ольга Юрьевна, кандидат биологических наук, доцент (Москва, Россия)

Лебединская Елена Владимировна, кандидат биологических наук (Москва, Россия)

РЕДАКТОР

Шестакова Алина Павловна (Москва, Россия)

Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment] — a journal of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. It was established in 2001 as a scientific journal of the L.A. Tarasevich State Scientific Research Institute for Standardization and Control of Biological Medicinal Products. It covers such issues as development, standardization, quality control, production and use of medicinal biological products and biomedical cell products, as well as diagnosis of infectious, allergic and immunopathological processes.

The journal publishes review papers and research articles pertaining to **biological and medical areas of research** and one of the following specialist fields: **03.01.00 Physicochemical Biology, 14.01.00 Clinical Medicine, 14.03.00 Medical and Life Sciences.**

EDITOR-IN-CHIEF

Yuri V. Olefir, Doctor of Medical Sciences, Senior Research Associate (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Vladimir P. Bondarev, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Zhanna I. Avdeeva, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Tamara V. Amvroseyeva, Doctor of Medical Sciences, Professor (Minsk, Republic of Belarus)

Mikhail K. Bakulin, Doctor of Medical Sciences, Professor (Kirov, Russia)

Igor V. Borisevich, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Viktor E. Volchkov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Lyon, France)

Maya S. Vorobieva, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Ilya V. Darmov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Kirov, Russia)

Sergey Kh. Degtyarev, Doctor of Biological Sciences, Professor (Novosibirsk, Russia)

Vyacheslav B. Ivanov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Georgy M. Ignatyev, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Diana T. Levi, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Artashes A. Movsesyants, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Vyacheslav D. Mosyagin, Doctor of Medical Sciences, Professor (Moscow, Russia)

Yuri I. Pashchenko, Doctor of Biological Sciences, Professor (Sergiev Posad, Moscow Oblast, Russia)

Ravil A. Khamitov, Doctor of Medical Sciences, Professor (Volginsky, Vladimir Oblast, Russia)

Konstantin M. Chumakov, Doctor of Biological Sciences (Silver Spring, Maryland, USA)

EXECUTIVE EDITOR

Vladimir I. Klimov, Candidate of Medical Sciences, Senior Research Associate (Moscow, Russia)

EDITORIAL COUNCIL

Sergey V. Borisevich, Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS (Sergiev Posad, Moscow Oblast, Russia)

Nikolay I. Briko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Aleksandr L. Gintsburg, Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Ivan A. Dyatlov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Obolensk, Moscow Oblast, Russia)

Vitaly V. Zverev, Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Vladimir V. Kutyrev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Saratov, Russia)

Dmitry K. Lvov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Nikolay V. Medunitsyn, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Mikhail I. Mikhaylov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the RAS (Moscow, Russia)

Valentin I. Pokrovsky, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Valery G. Savchenko, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Vasily F. Uchaykin, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

Rakhim M. Khaitov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of the RAS (Moscow, Russia)

SCIENCE EDITORS

Olga Yu. Goykalova, Candidate of Biological Sciences, Assistant Professor (Moscow, Russia)

Elena V. Lebedinskaya, Candidate of Biological Sciences (Moscow, Russia)

EDITOR

Alina P. Shestakova (Moscow, Russia)

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

- Определение вирусных нуклеиновых кислот в крови человека**
М. А. Абдурашитов, Н. А. Нетесова 208
- Мировая практика хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинических целях**
О. А. Рачинская, А. А. Чапленко, Е. В. Мельникова, И. С. Семенова, Ю. В. Олефир 216
- Ретроспективный анализ заболеваемости вирусным гепатитом В населения Российской Федерации с 2013 по 2017 г. в аспекте вакцинопрофилактики**
Л. М. Хантимирова, Т. Ю. Козлова, Е. Л. Постнова, В. А. Шевцов, А. В. Рукавишников 225
- Вакцинопрофилактика полиомиелита на современном этапе**
Е. В. Карпова, К. А. Саркисян, А. А. Мовсесянц, В. А. Меркулов 236

Оригинальные статьи

- Оценка стабильности производства конклюшного компонента АКДС-вакцины по показателям иммуногенной активности и специфической безопасности с использованием карт Шухарта**
И. А. Алексеева, О. В. Перелыгина, Е. Д. Колышкина 243
- Использование наборов реагентов для ОТ-ПЦР в реальном времени для оценки подлинности вакцин против кори, паротита и краснухи**
А. С. Бинятова, Е. Д. Мыца, Н. В. Чертова, Р. А. Волкова, К. А. Саркисян, Т. Н. Ильясова, Т. Н. Юнасова, А. А. Мовсесянц, В. А. Меркулов 249
- Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца содержания полисахарида в вакцине Шигеллвак**
В. А. Волков, М. В. Абрамцева, Т. И. Немировская, В. П. Ковтун, О. В. Фадейкина, Р. А. Волкова 257
- Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца для контроля специфической активности и термостабильности вакцины чумной живой**
И. В. Касина, С. А. Алексеева, О. В. Фадейкина, Т. И. Немировская, Р. А. Волкова 262

Хроника

- Василий Федорович Учайкин (к 80-летию со дня рождения)** 268
- Юрий Иванович Пашенко (к 60-летию со дня рождения)** 269
- Георгий Михайлович Игнатъев (к 60-летию со дня рождения)** 270

Свидетельство о регистрации средства массовой информации:
ПИ № ФС77-53128 от 14.03.2013

Учредитель:

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Адрес редакции: 127051, Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

E-mail: biopreparaty@expmmed.ru

Телефон: +7 (495) 625-43-48, доб. 63-35, 63-42, 63-08, 63-36

Сайт: www.biopreparations.ru

Издатель: ООО «Ваше Цифровое Издательство»

Юридический адрес: 109263, Москва, ул. Шкулева, д. 9, к. 2

E-mail: isupport@neicon.ru

Телефон/факс: +7 (499) 754-99-93

Сайт: http://elpub.ru

Подписано в печать: 20.11.2018

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 8,5

Бумага мелованная. Печать офсетная

PREVENTION, DIAGNOSIS, TREATMENT

Peer-reviewed scientific and practical journal

CONTENTS

Reviews

- Determination of Viral Nucleic Acid in the Human Blood** 208
M. A. Abdurashitov, N. A. Netesova
- International Practice of Storing Human Cell Lines Intended for Clinical Use** 216
O. A. Rachinskaya, A. A. Chaplenko, E. V. Melnikova, I. S. Semenova, Yu. V. Olefir
- Retrospective Analysis of Viral Hepatitis B Incidence in Russia from 2013 to 2017
in the Context of Preventive Vaccination** 225
L. M. Khantimirova, T. Yu. Kozlova, E. L. Postnova, V. A. Shevtsov, A. V. Rukavishnikov
- Preventive Vaccination against Poliomyelitis: Modern View** 236
E. V. Karpova, K. A. Sarkisyan, A. A. Movsesyants, V. A. Merkulov

Original Articles

- Estimation of Consistency of Production of the Pertussis Component of DTP Vaccine
in Terms of Immunogenic Activity and Specific Safety Using Shewhart Charts** 243
I. A. Alekseeva, O. V. Pereyagina, E. D. Kolyshkina
- Using Real-Time RT-PCR Reagent Kits for Identity Testing of Measles, Mumps and Rubella Vaccines** 249
A. S. Binyatova, E. D. Mytsa, N. V. Chertova, R. A. Volkova, K. A. Sarkisyan, T. N. Ilyasova,
T. N. Yunasova, A. A. Movsesyants, V. A. Merkulov
- Certification of a New Batch of the Industry Reference Standard
of Polysaccharide Content in Schigellvac Vaccine** 257
V. A. Volkov, M. V. Abramtseva, T. I. Nemirovskaya, V. P. Kovtun, O. V. Fadeykina, R. A. Volkova
- Certification of a New Batch of the Industry Reference Standard
for the Control of Specific Activity and Thermal Stability of Live Plague Vaccine** 262
I. V. Kasina, S. A. Alekseeva, O. V. Fadeykina, T. I. Nemirovskaya, R. A. Volkova

Chronicle

- Vasily Fedorovich Uchaykin (on the 80th Anniversary)** 268
- Yuri Ivanovich Pashchenko (on the 60th Anniversary)** 269
- Georgy Mihailovich Ignatyev (on the 60th Anniversary)** 270

Mass media registration certificate:
ПМ № ФС77-53128 of March 14, 2013

Founder: Federal State Budgetary Institution
«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
of the Ministry of Health of the Russian Federation

Postal address: 8/2 Petrovsky boulevard, Moscow 127051

E-mail: biopreparaty@expmed.ru

Phone: +7 (495) 625-43-48, ext. 63-35, 63-42, 63-08, 63-36

Website: www.biopreparations.ru

Publisher: «Your Digital Publishing» LLC

Registered office: 9/2 Shkuleva street, Moscow 109263

E-mail: isupport@neicon.ru

Phone/fax: +7 (499) 754-99-93

Website: http://elpub.ru

Passed for printing: November 20, 2018

Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8.5

Enamel-paper. Offset printing

Определение вирусных нуклеиновых кислот в крови человека

М. А. Абдурашитов, Н. А. Нетесова*

Федеральное бюджетное учреждение науки

«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
р.п. Кольцово, Новосибирская область, 630559, Российская Федерация

Многие острые вирусные инфекции вызывают сходную клиническую симптоматику, поэтому установление этиологии вирусного заболевания требует применения целых комплексов серологических или ПЦР-тестов, предназначенных для выявления отдельного вида патогена. Современные методы молекулярной биологии позволяют проводить раннюю диагностику вирусных заболеваний в тот период, пока серологические методы диагностики еще не эффективны. Цель работы состояла в проведении анализа методов молекулярной диагностики, позволяющих определять вирусные нуклеиновые кислоты в крови человека. В статье представлена классификация молекулярных методов диагностики вирусных частиц в клинических образцах. Подробно рассмотрены такие методы, как гибридизация *in situ*, реакция обратной транскрипции (ОТ-ПЦР), двухраундовая ПЦР, мультиплексная ПЦР, а также технология ДНК-микрочипов, метод массового параллельного секвенирования. Особое внимание уделено NGS-технологиям, которые стали использоваться в вирусологии практически сразу же после их появления и позволили обнаружить целый ряд новых видов вирусов человека (включая представителей анелловирусов, пикорнавирусов, полиомавирусов и др.). Обсуждаются достоинства, проблемы, связанные с применением этих методов в клинической практике, а также перспективы их усовершенствования.

Ключевые слова: амплификация; вирусные инфекции; массовое параллельное секвенирование; молекулярная диагностика; полимеразная цепная реакция

Для цитирования: Абдурашитов МА, Нетесова НА. Определение вирусных нуклеиновых кислот в крови человека. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(4):208–215. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-208-215>

Контактное лицо: Нетесова Нина Александровна; ninanet@vector.nsc.ru

Determination of Viral Nucleic Acid in the Human Blood

M. A. Abdurashitov, N. A. Netesova*

State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR,

Koltsovo, Novosibirsk Oblast 630559, Russian Federation

Many acute viral infections cause similar clinical symptoms, therefore, establishing the etiology of a viral disease requires the use of whole complexes of serological or PCR tests designed to detect a particular type of pathogen. Modern methods of molecular biology allow early diagnosis of viral diseases at a time when serological diagnostic methods are not yet effective. The aim of the work was to analyze molecular diagnostic methods that allow the determination of viral nucleic acids in human blood. The article presents the classification of molecular methods for the diagnosis of viral particles in clinical specimens. Methods such as *in situ* hybridization, reverse transcription reaction (RT-PCR), nested PCR, multiplex PCR, as well as DNA microarray technology, and the method of massive parallel sequencing are considered in detail. Particular attention is paid to NGS-technologies that were used in virology almost immediately after their appearance and allowed for detection of a number of new types of human viruses (including representatives of anelloviruses, picornaviruses, polyomaviruses, etc.). The advantages and problems associated with the application of these methods in clinical practice, as well as the prospects for their improvement are discussed.

Key words: amplification; viral infections; massive parallel sequencing; molecular diagnostics; polymerase chain reaction

For citation: Abdurashitov MA, Netesova NA. Determination of viral nucleic acid in the human blood. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(4):208–215. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-208-215>

Corresponding author: Nina A. Netesova; ninanet@vector.nsc.ru

Вирусные заболевания представляют собой одну из наиболее распространенных и серьезных угроз здоровью людей. Быстрая и точная диагностика таких заболеваний облегчает выбор наиболее подходящего курса лечения и может способствовать предотвращению массовых эпидемий. Успешность диагностирования вирусной инфекции в крови человека зависит от многих факторов: способности вируса проникать и размножаться в кровотоке, наличия специфических антигенов к нему, а также от общего состояния иммунной системы.

В случае первичного контакта с возбудителем, в первые дни после проникновения в кровеносную систему, наблюдается стремительное увеличение количества вирусных частиц. Именно в данный период применение методов молекулярной диагностики обеспечит максимальную эффективность установления вида патогена. С течением времени иммунная система начинает вырабатывать специфические антитела, что постепенно ведет к исчезновению вирионов. На этом этапе точно поставить диагноз позволяют серологические методы.

Целью настоящей работы является анализ современных методов молекулярной диагностики, позволяющих проводить раннюю диагностику вирусных заболеваний путем выявления чужеродных нуклеиновых кислот в образцах крови пациентов.

Молекулярная диагностика

В настоящее время молекулярная диагностика широко применяется для определения наличия вирусных частиц в клинических образцах. Методы молекулярной диагностики позволяют обнаружить вирусы во время острой фазы заболевания, на сроках, когда серологические методы, включая ИФА, неэффективны.

Молекулярные методы диагностики подразделяются на различные группы: методы с использованием зондов без амплификации нуклеиновых кислот (жидкофазные, твердофазные и гибридизация *in situ* (ISH)) [1], амплификация с использованием нуклеиновых кислот (полимеразная цепная реакция, ПЦР) [2–5], ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР) [6, 7], мультиплексная ПЦР [8], двухраундовая ПЦР [9], ПЦР с обратной транскрипцией, изотермическая амплификация ДНК, опосредованная петлей (loop-mediated isothermal amplification of DNA, LAMP), и микрочипы [10].

Методы с использованием зондов без амплификации нуклеиновых кислот

Методы, основанные на использовании зондов, требуют присутствия не менее 10^6 определяемых молекул в анализируемом образце. Таким образом, эти методы применимы для быстрого и специфического обнаружения вирусов лишь при условии их достаточного количества в образцах крови [11].

Отдельно стоит рассмотреть гибридизацию *in situ* (ISH), когда используются радиоактивно меченые зонды для обнаружения вирусных последовательностей-мишеней ДНК или РНК в интактных клетках или тканях. На сегодняшний день широкое применение находит новое поколение методов ISH, в котором используют нерадиоактивный дигоксигенин — гаптен, позволяющий проводить анализ с большим разрешением. ISH является быстрым методом определения внутриклеточной локализации вирусов, например, гепатита. Стабильность связывания целевых последовательностей нуклеиновых кислот и зондов зависит от температуры и концентрации солей, от GC-состава и длины зонда.

Во флуоресцентной ISH (FISH) для обнаружения вирусов используют пептид-нуклеиновую кислоту. FISH является точным и высокочувствительным методом выявления геномной ДНК и РНК в гомогенизированных тканях. Основным недостатком этого метода является низкая доступность к целевой последовательности нуклеиновой кислоты в клетках из-за твердофазной гибридизации [12].

Методы с амплификацией нуклеиновых кислот

С открытием ПЦР началась эра точных и быстрых методов в молекулярно-биологических исследованиях и диагностике. ПЦР является наиболее известным практическим подходом для амплификации целевой последовательности ДНК в тысячи раз в течение короткого времени. В основе метода лежит проведение нескольких циклов амплификации целевого фрагмента ДНК с праймеров-затравок при помощи термофильной ДНК-полимеразы с удвоением количества фрагмента в каждом цикле амплификации. Результат реакции может быть определен в конце процесса, либо детектироваться в реальном времени [13].

Для определения вирусной РНК вначале необходимо провести реакцию обратной транскрипции для создания одноцепочечной кДНК с последующей ПЦР (ОТ-ПЦР). ОТ-ПЦР

является быстрым методом анализа (достаточно 1–2 ч), хотя чувствительность не всегда одинакова для различных штаммов вирусов и лимитирована стадией обратной транскрипции.

Двухраундовая ПЦР исследуемого фрагмента ДНК является производной простой ПЦР и характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью. В этой технике используются две пары праймеров: сначала проводится амплификация последовательности-мишени с пары внешних праймеров, а затем — с пары праймеров, лежащих внутри уже синтезированного фрагмента ДНК [14, 15]. Двухраундовая амплификация является и самым большим недостатком. Она увеличивает риск контаминации и требует больше времени для анализа по сравнению с простой ПЦР.

Мультиплексная ПЦР является вариантом ПЦР, в котором используются более одного набора праймеров с совпадающими температурами отжига, для детекции двух и более целевых последовательностей ДНК. Мультиплексная ПЦР является эффективным средством практической молекулярной диагностики для обнаружения множественных вирусных патогенов. Одновременное проведение нескольких реакций в одной пробирке представляется экономически целесообразным подходом для научных исследований и клинического применения [16, 17].

ПЦР в реальном времени в настоящее время является «золотым стандартом» определения нуклеиновых кислот в вирусологических исследованиях. ПЦР в реальном времени может применяться для количественного определения вирусных нуклеиновых кислот в образцах крови. Этот метод также позволяет проводить высокочувствительный, специфичный и воспроизводимый анализ вирусных нуклеиновых кислот.

Микрочипы

Среди множества разнообразных методов диагностики именно микрочипы (биочипы или «лаборатории-на-чипе») превращают молекулярную диагностику в мощный миниатюрный инструмент. Принцип микрочипов основан на параллельной гибридизации мишени (меченые РНК или ДНК) и зондов (несколько отдельных видов нуклеиновых кислот, иммобилизованных на твердой поверхности). По сути, микрочипы являются эволюцией Саузерн-блоттинга [18]. При необходимости связавшиеся с зондами фрагменты нуклеиновых кислот могут быть смыты или физически отделены от подложки для определения их полной последовательности (рис. 1).

Методы с использованием микрочипов являются достаточно высокочувствительными и специфичными. Однако для детекции результата гибридизации между зондами и мечеными целевыми последовательностями необходим специальный сканер. Микрочипы способны анализировать тысячи генов, включая вирусные нуклеотидные последовательности, одновременно. Этот метод хорошо подходит для выявления сразу нескольких вирусов в образце.

Повысить диагностическую эффективность ПЦР помогают новые протоколы выделения нуклеиновых кислот, включающие смывку фрагментов ДНК и РНК с форменных элементов крови при помощи трипсина [19, 20]. С другой стороны, применение новых технологий массового параллельного секвенирования (next generation sequencing, NGS) позволяет анализировать пикограммы нуклеиновых кислот, в том числе и фрагментированных [21]. Таким образом, использование более чувствительных и производительных методов молекулярной диагностики позволит выявлять ДНК и РНК возбудителя в сложных случаях с длительным течением заболевания. Это может стать важным решением для постановки диагноза, когда классические методы не дают однозначного ответа.

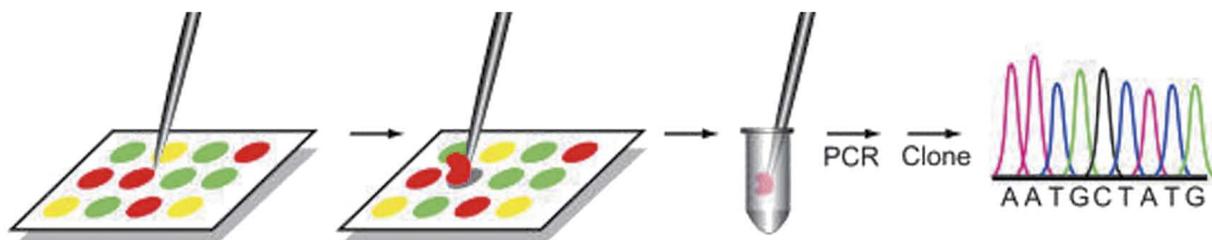


Рис. 1. Схема определения последовательности фрагмента вирусной ДНК путем гибридизации на биочипе, физического отделения связанной ДНК тонкой иглой, ПЦР-амплификации, клонирования и последующего секвенирования [18].
Fig. 1. Viral DNA Recovery and Sequencing Scheme (Hybridized viral sequences were physically scraped from a DNA microarray spot, amplified, cloned, and subsequently sequenced) [18].

Применение массового параллельного секвенирования в вирусологии

Секвенирование следующего поколения (NGS-секвенирование) дает возможность получения огромного объема данных в ходе одного эксперимента и позволяет выявлять чужеродные нуклеиновые кислоты в крови без необходимости использования трудоемкого и далеко не всегда успешного культивирования вирусов. Основными направлениями NGS-исследований в вирусологии являются: поиск новых вирусных патогенов, анализ вариабельности в определенных группах вирусов, определение всей совокупности вирусов (вирома) в организмах, изучение процессов взаимодействия в системе паразит-хозяин и молекулярных основ патогенеза [13, 21]. Особую ценность новые технологии секвенирования представляют для диагностики инфекционных вирусных заболеваний, так как по сравнению с классическими способами позволяют сократить время выявления патогена и одновременно дают информацию о первичной структуре его генома. На основании анализа этой структуры возможны предсказание устойчивости нового штамма к применяемым лекарственным препаратам и оценка действенности имеющихся серологических тестов [23, 24].

Как и любая новая технология на этапе своего становления, методы NGS для постановки диагноза при вирусных заболеваниях нуждаются в дальнейшем усовершенствовании. Одной из важнейших проблем, с которой столкнулись исследователи, является загрязнение образцов нецелевыми нуклеиновыми кислотами. Прежде всего это относится к ДНК хозяина, попадающей в кровь в результате распада лейкоцитов или перманентно присутствующей в плазме крови (так называемая циркулирующая внеклеточная ДНК [25]). Последовательности ДНК хозяина легко могут быть опознаны и удалены при биоинформатической обработке данных, полученных при секвенировании, но при малых количествах вирионов в крови присутствие ДНК хозяина может существенно снизить объем данных по вирусным нуклеиновым кислотам. Так, в одной из ранее проведенных работ доля последовательностей патогена составила лишь 0,00067 % в общем массиве данных секвенирования суммарной ДНК из крови человека [13, 26]. Используя предварительное концентрирование вирионов из плазмы крови больных путем высокоскоростного центрифугирования, удастся несколько улучшить показатели. Например, в случае секвенирования тотальной кДНК из плазмы крови пациентов с норовирусной инфекцией после предварительного ультрацентрифугирования доля структур нуклеиновых кислот патогена составила 0,12–1,90 % [27]. Для более значительного увеличения числа прочтений (ридов) вирусных геномов можно использовать ряд простых приемов при пробоподготовке. Предварительно образец крови подвергается центрифугированию для осаждения и удаления кровяных клеток. С этой же

целью иногда применяется фильтрация через мелкопористые вирусологические мембраны. Поскольку митохондрии из распавшихся клеток хозяина не удается удалить полностью, то дополнительно проводят обработку хлороформом, растворяющим их липидные мембраны. В полученном препарате все еще содержатся значительные количества циркулирующей и митохондриальной ДНК человека, которая может быть элиминирована дополнительной обработкой неспецифическими нуклеазами. Нуклеиновые кислоты вирусов при этом защищены капсидными оболочками и не подвергаются деструкции. Таким образом удается значительно уменьшить число нецелевых последовательностей при проведении секвенирования на NGS-машине [28, 29].

С учетом этих приемов наиболее эффективная процедура выделения вирусных нуклеиновых кислот из образцов крови для NGS-анализа включает в себя стадии, показанные на рисунке 2 [13].

Результаты проведения отдельных стадий могут выборочно контролироваться с помощью электронной микроскопии (присутствие вирионов) или ПЦР-тестов на количество ДНК че-



Рис. 2. Схема процедуры выделения вирусных нуклеиновых кислот из образцов крови для NGS-анализа.
Fig. 2. Scheme for viral nucleic acids isolation from blood samples for NGS analysis.

ловека (определение степени контаминации ДНК хозяина) [30]. Доступен ряд коммерческих наборов для выделения вирусных нуклеиновых кислот из жидких биоматериалов, которые включают в себя буферные растворы для лизиса вирионов и микроколонки для очистки нуклеиновых кислот. Также могут быть разработаны специализированные аппараты для отделения клеток крови хозяина от вирусных частиц. Например, сотрудниками Массачусетского технологического института (США) и партнерских научных и медицинских организаций создан аппарат, использующий микрофлюидные технологии для негативной селекции вирионов из образцов крови [31].

Еще одним известным подходом для увеличения выхода вирусных нуклеиновых кислот является их обогащение, в котором используется гибридизация с синтезированными одноцепочечными олигонуклеотидами, структура которых соответствует наиболее консервативным участкам известных вирусных патогенов. Созданы и успешно апробированы тестовые панели, позволяющие увеличить число чтений вирусных последовательностей в одном NGS-эксперименте до 50–99 % и при этом охватывающие широкий круг вероятных патогенов [32, 33].

Выход целевого материала после выделения не является достаточным для большинства секвенирующих машин, требующих не менее 1 мкг ДНК на одно секвенирование. Это объясняется относительно невысокой концентрацией вирусных частиц в крови и малыми размерами геномов большинства вирусов. Однако эта трудность может быть преодолена проведением дополнительной ПЦР-амплификации [13, 34]. В последние годы появились коммерческие наборы для увеличения количества ДНК в низкокопийных образцах, основанные на этом принципе (Illumina TruSeq Nano, NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit, ThruPLEX Plasma-seq Kit, KAPA Hyper Prep Kit). После получения вирусной ДНК или кДНК в достаточном количестве дальнейшая пробоподготовка зависит от типа секвенирующей машины и проводится в соответствии с протоколами производителя прибора.

Кроме наличия ДНК хозяина, другую сложность в идентификации патогена могут создать вирусы, не являющиеся основной причиной инфекции, а появившиеся в результате вторичной инфекции или являющиеся составной частью нормального микробиома человека. Как показали ДНК-чиповые и NGS-исследования последних лет, вирусы, вызывающие острые и хронические инфекционные заболевания, составляющие лишь небольшую, эпизодически возникающую часть виroma человека [35, 36]. По большей части разнообразные вирусы-комменсалы или вирусы с неизвестной степенью патогенности обнаруживаются в кишечнике, на коже, слизистых оболочках и различных органах человека, а в крови, насколько это известно в настоящее время, присутствуют лишь некоторые их виды [37]. Так, в плазме крови более 90 % обследованных здоровых людей были найдены анелловирусы [38]. В NGS-ридах ДНК из плазмы крови также часты последовательности, соответствующие хорошо изученным представителям семейства *Herpesviridae*: цитомегаловирусу, вирусу Эпштейна-Барр и герпесвирусам типов 1, 2, 6 и 8, причем количество такой ДНК увеличивается с возрастом обследуемых [39]. Современное обобщенное представление о структуре виroma человека, подавляющую часть которого составляют малоизученные и не вызывающие острых инфекций разновидности вирусов, показано на рисунке 4.

В образцах крови некоторых бессимптомных индивидов могут быть обнаружены ДНК или РНК других вирусов, в частности энтеровирусов и аденовирусов, а также бактериофагов [40–42]. Таким образом, при анализе данных NGS необходимо учитывать возможность присутствия в крови вирусов, не являющихся возбудителем изучаемого основного заболевания (ви-

русов-комменсалов, вирусов хронических и вторичных инфекций, а также малопатогенных и медленно размножающихся штаммов вирусов). Это может привести к ложной идентификации патогена. Кроме того, при многих скоротечных острых инфекциях, например вызываемых некоторыми флавивирусами, титр возбудителя в крови достаточно высок лишь в течение первых дней, а затем резко снижается из-за включения иммунного ответа, хотя симптоматика заболевания еще частично сохраняется [43]. Запоздалое взятие образца крови в этих случаях увеличивает вероятность ошибки в NGS-диагностике.

NGS-технологии стали использоваться в вирусологии практически сразу же после их появления, и, несмотря на описанные трудности, с их помощью уже обнаружен целый ряд новых видов

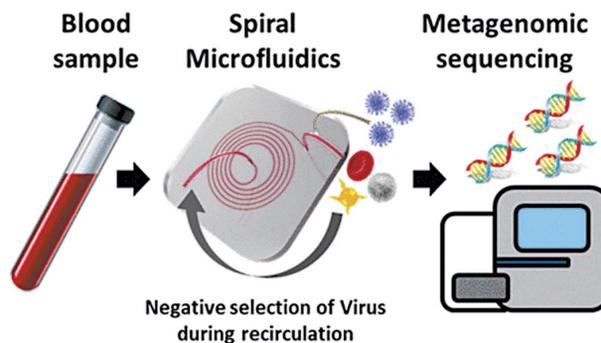


Рис. 3. Негативная селекция вирусных частиц путем рециркуляции [31].
Fig. 3. Negative selection of virus during recirculation [31].

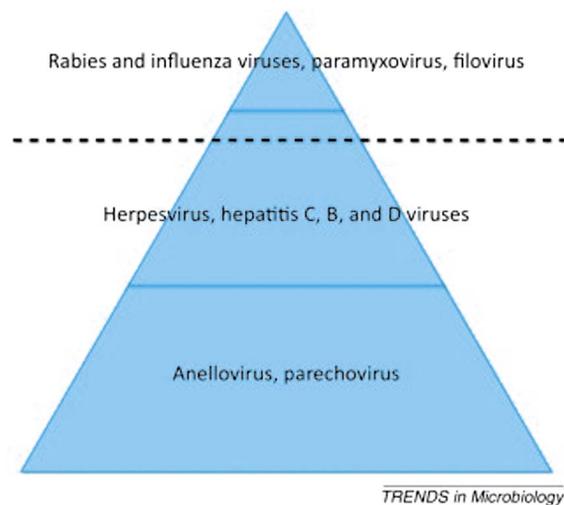


Рис. 4. Пирамида вирусных инфекций. Показатель, при котором у людей проявляются явные симптомы болезни (процент инфицированных) может быть высоким (вирусы бешенства и гриппа, парамиксовирус и филовирс — вершина «айсберга»), средним (вирусы герпеса, гепатита С, В и D) или низким (анелловирус и пареховирус, основание «айсберга»). В истории вирусологических исследований внимание постепенно переходило от вершины к основанию пирамиды. Область под пунктирной линией соответствует бессимптомным инфекциям [39].

Fig. 4. The iceberg of viral infections. The rate at which people show overt disease symptoms as a proportion of those infected can be high (rabies and influenza viruses, paramyxovirus, and filovirus; tip of iceberg), medium (herpesvirus, hepatitis C, B, and D viruses), or low (anellovirus and parechovirus; base of iceberg). In the history of virus discovery attention has progressively shifted from the tip to the base of the iceberg. The volume below the dashed line corresponds to the asymptomatic infections [39].

вирусов человека, включая представителей анелловвирусов, пикорнавирусов, полиомавирусов и многих других [44]. В качестве примеров успешного использования массового параллельного секвенирования для идентификации новых опасных вирусных патогенов можно привести выявление возбудителей острой геморрагической лихорадки (рабдовирус Bas-Congo), острой инфекции центральной нервной системы (цикловирс CyCV-VN), тромбоцитопении (буньявирус HNF) [45–47].

Как известно, многие острые вирусные инфекции имеют сходную симптоматику, поэтому установление точной этиологии заболевания требует проведения целых комплексов серологических или ПЦР-тестов, каждый из которых предназначен для выявления отдельного вида патогена, в то время как NGS-технологии упрощают идентификацию вида вируса. Иллюстрацией может служить установление единичного случая желтой лихорадки в 2010 г. в Уганде у пациента с острой геморрагической лихорадкой [13, 48]. Имеющиеся серологические и ПЦР-тесты на распространенных в этой стране возбудителей лихорадки денге, лихорадки западного Нила, малярии, крымско-конгской лихорадки, а также на вирусы Эбола и Марбург, дали отрицательный результат. Поэтому авторы исследования использовали секвенирование следующего поколения и обнаружили в сыворотке крови больного последовательности вируса YFV, причем покрытие генома вируса составило 98 %. В ряде других описанных случаев использование метагеномного NGS-анализа помогло установить возбудителей острого энцефалита у пациентов. Как известно, это тяжелое состояние может быть вызвано более чем сотней различных вирусных и бактериальных патогенов, что затрудняет выбор наиболее подходящего метода лечения [49]. Методы ПЦР-диагностики, несмотря на простоту, в таких случаях требуют знания нуклеотидных структур геномов всех предполагаемых возбудителей заболевания, в то время как NGS-анализ позволяет выявить даже очень редкие или ранее неизвестные патогены (рис. 5).

Высокая степень чувствительности нового метода диагностики была подтверждена во время вспышки заболевания лихорадкой Эбола в 2008 г. [50]. В отличие от традиционных серологических тестов, секвенирование следующего поколения позволило выявить наличие вируса во всех исследованных образцах сыворотки крови. Для получения вирусной кДНК авторы работы применили ОТ-ПЦР со случайных праймеров, а анализ нуклеотидных последовательностей показал, что возбудителем является новый, прежде неизвестный вариант вируса Эболы, несколько отличающийся по серологическим свойствам от описанных субтипов. Еще одним примером выявления новых субтипов вирусов с помощью NGS-технологий служит получение трех полногеномных последовательностей вируса чикунгунья из плазмы крови трех бессимптомных носителей в Пуэрто-Рико [13, 51]. Проблема незначительного количества инфекционных агентов в крови в этом примере была успешно решена с помощью предварительного проведения изотермической транскрипционной РНК-амплификации (transcription-mediated amplification, TMA), считающейся более эффективной, чем ПЦР-амплификация.

Технологии NGS успешно применяются не только для поиска новых возбудителей и идентификации видов патогенов, но и для быстрого определения вариантов известного вируса, циркулирующих в данной местности во время вспышки заболевания. Геномы близкородственных вирусов содержат высококонсервативные участки, что дает возможность значительно упростить пробоподготовку в таких случаях. Используя праймеры на эти участки, проводят ПЦР амплификацию тотальной РНК (или ДНК), выделенной из крови. Полученные таким образом ПЦР-продукты не содержат контаминирующей ДНК, и поэтому последующее секвенирование на NGS-машине позволяет получить очень высокую степень покрытия исследуемых участков генома. Так как наборы реактивов для NGS все еще дорогостоящи, то в ходе одного секвенирования рационально получать данные сразу для нескольких десятков образцов. Для

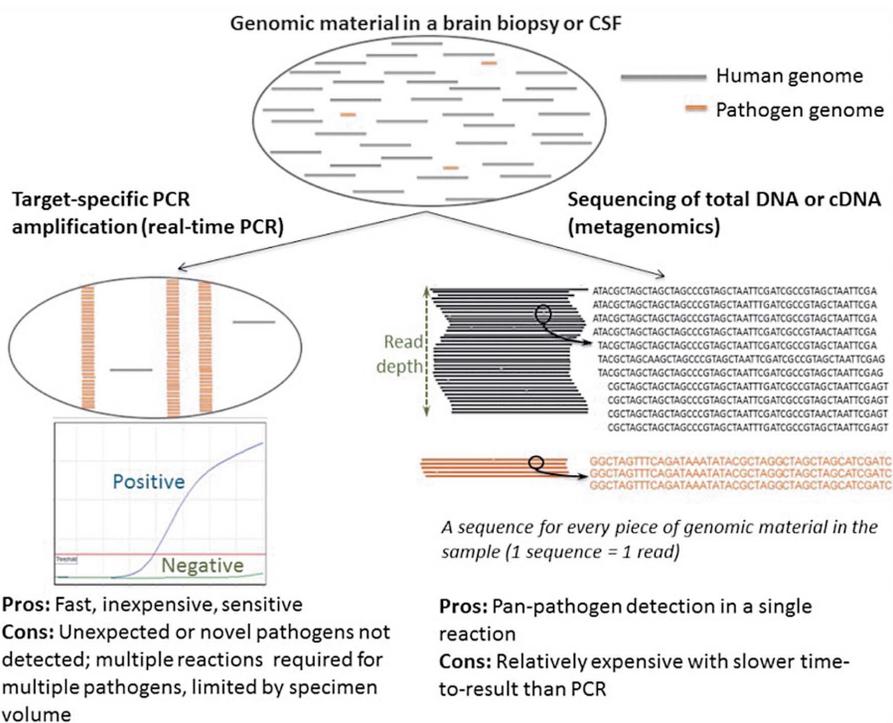


Рис. 5. Схематичное сравнение метода патоген-специфичной ПЦР с методом метагеномного анализа для обнаружения патогена [49].

Fig. 5. Schematic of pathogen-specific real-time PCR versus metagenomics for pathogen detection [49].

различия последовательностей из разных проб используются короткие олигонуклеотидные метки (индексы или баркоды), пришитые к секвенируемым фрагментам ДНК. В частности, этот прием уже находит применение для определения субтипов гриппа в ходе анализа РНК во время сезонных вспышек. Хотя для обнаружения вируса гриппа достаточно исследовать мазки из носоглотки, но метод также может быть легко адаптирован для образцов крови при иных вирусных заболеваниях [52]. На рисунке 6 представлена краткая схема определения вирусных нуклеиновых кислот в биоматериале человека (образцы крови, биопсийный материал, мазки, выделения организма). Вирусные частицы выделяются из образца на основе размера и/или плотности. Затем вирусные нуклеиновые кислоты экстрагируют, проводят пробоподготовку и секвенируют. Последовательности подвергают скринингу для удаления невирусных последовательностей (например, от человеческих или бактериальных хозяев). Наконец, короткие чтения собираются в более длинные непрерывные последовательности и аннотируются.

Рассматриваемая тема субтипирования очень важна в диагностике многих вирусных заболеваний. От правильного определения разновидности того или иного вируса зависит выбор курса лечения, так как различные штаммы отличаются по устойчивости к применяемым противовирусным препаратам. Эволюция вирусов происходит с большой скоростью, что особенно характерно для РНК-содержащих вирусов, полимераза которых не обладает корректирующей активностью. Это приводит к возникновению вариантов вируса с измененными антигенными, тропизменными и лекарственно-устойчивыми свойствами за относительно короткое время. Секвенирование следующего поколения нуклеиновых кислот из образцов крови позволяет быстро определить субтип патогена путем сравне-

ния его нуклеотидных последовательностей с известными первичными структурами геномов вирусов [13, 53].

В научной литературе также обсуждается возможность NGS-мониторинга состояния пациентов с хроническими вирусными инфекциями и с заболеваниями с длительным латентным периодом. В частности, использование массового параллельного секвенирования выглядит перспективным для отслеживания течения такого заболевания, как СПИД, включая и контроль успешности применения лекарственных препаратов и лечебных процедур. Особо привлекательной особенностью NGS-анализа в этом случае является то, что определяются не только вирусная нагрузка и появление новых мутационных вариантов ВИЧ (квазивидов), но и разнообразные вторичные инфекции, вызванные снижением иммунитета [54].

В более отдаленной перспективе NGS-исследования могут применяться гораздо шире, чем в настоящее время. Этому способствуют уникальные возможности технологии, не требующей культивирования и изоляции вируса и позволяющей определить весь спектр чужеродных ДНК и РНК, присутствующих в крови [55]. Кроме выявления и идентификации вирусов у заболевших людей NGS также может применяться для определения видов животных, являющихся природным резервуаром инфекции, а также для мониторинга присутствия опасных вирусов в популяциях диких животных или на животноводческих фермах. Такие наблюдения помогут заблаговременно осуществить необходимые меры по предупреждению вспышек заболеваний (информирование населения для снижения числа контактов с носителями, вакцинация, ограничение нахождения людей в неблагополучном районе и т. д.) [13, 56].

Другой областью применения NGS может стать анализ крови доноров, предназначенной для переливания нуждающимся лицам. Существует большое число хронических или латентных вирусных заболеваний с неявно выраженной симптоматикой, которые могут быть переданы при переливании крови (например, СПИД, гепатиты, парвовирусная инфекция и т. д.). Контроль стерильности банков крови поможет избежать случайного заражения реципиентов такими инфекциями [57–59].

В настоящее время оборудование и расходные материалы для проведения массового параллельного секвенирования все еще достаточно дороги для широкого применения в диагностических целях. Тем не менее быстрый технический прогресс, наблюдаемый в последнее десятилетие в области определения структур нуклеиновых кислот, и постоянное снижение стоимости процесса секвенирования дают все основания полагать, что в будущем процедура NGS-анализа ДНК и РНК в крови для выявления патогенных вирусов станет одной из стандартных и часто применяемых в клинической практике.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственных заданий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора № 141-00171-01, № 141-00069-18-01 на проведение прикладных научных исследований (номера государственного учета НИР АААА-Б17-217022820201-7 (28.02.2017) и АААА-А16-116040810107-1 (17.03.2018)).

Acknowledgments. The study reported was conducted in the framework of the State task State Research Center of Virology and Biotechnology VECTOR № 141-00171-01, № 141-00069-18-01 (R&D public accounting No. АААА-Б17-217022820201-7 (28.02.2017) and АААА-А16-116040810107-1 (17.03.2018)).

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

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

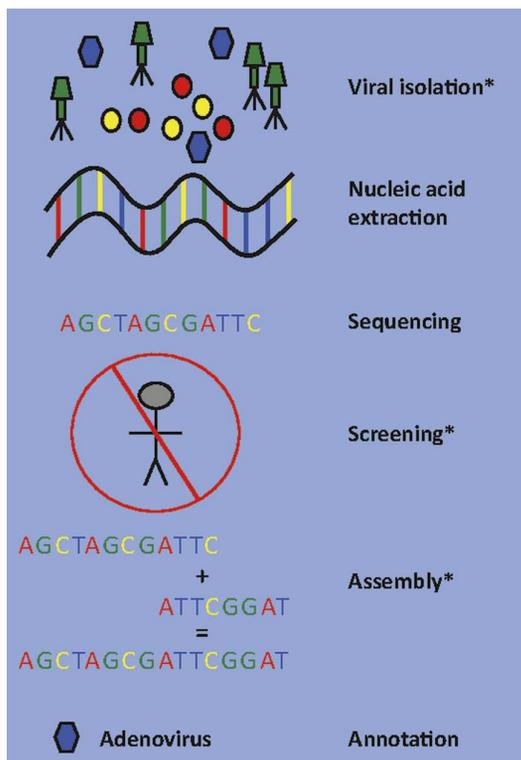


Рис. 6. Общая процедура определения патогенных микроорганизмов с использованием метагеномики.

* Не обязательные или зависящие от цели исследования шаги [52].

Fig. 6. General procedure for identifying pathogens using shotgun metagenomics.

* Denotes optional or application-dependent steps [52].

Литература / References

1. Wu F, Hong T, Della-Latta P. *Nonamplified probe-based microbial detection and identification*. In: Tang YW, Stratton CW. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. New York: Springer; 2013.
2. Lo YMD, Chan KCA. *Introduction to the polymerase chain reaction*. In: Lo YMD, Chiu RWK, Chan KCA, eds. *Clinical Applications of PCR. Methods in Molecular Biology*. Humana Press; 2006. P. 1–10.
3. Chang CC, Chen CC, Wei SC, Lu HH, Liang YH, Lin CW. Diagnostic devices for isothermal nucleic acid amplification. *Sensors (Basel)*. 2012;12(6):8319–37. <https://doi.org/10.3390/s120608319>
4. Karami A, Gill P, Motamedi MH, Saghafinia M. A review of the current isothermal amplification techniques: applications, advantages and disadvantages. *J Global Infect Dis*. 2011;3(3):293–302. <https://doi.org/10.4103/0974-777x.83538>
5. Balachandra K, Thawaranantha D, Pitaksutheepong C, Techayingpaiboon D, Jongtrakulsiri S, Bhumisawasdi J. Detection of hepatitis B virus DNA in blood donors using polymerase chain reaction. *B Dep Med Sci*. 2013;36(3):145–52.
6. Chang CC, Chen CC, Wei SC, Lu HH, Liang YH, Lin CW. Diagnostic devices for isothermal nucleic acid amplification. *Sensors (Basel)*. 2012;12(6):8319–37. <https://doi.org/10.3390/s120608319>
7. Johnson G, Nolan T, Bustin SA. Real-time quantitative PCR, pathogen detection and MIQE. *Methods Mol Biol*. 2013;943:1–16. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-353-4_1
8. Loeffelholz M, Dong J. PCR and its variations. In: Tang YW, Stratton CW. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. New York: Springer; 2013.
9. Nurtjahyani SD, Handajani R. Detection of hepatitis B virus DNA among abdominal typhus patients with hepatitis B virus co-infection in Tuban district based on nested PCR technique. *J Biol Agr Healthcare*. 2013;3(6):101–5.
10. Hu Y. Molecular techniques for blood and blood product screening. In: Tang YW, Stratton CW. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. New York: Springer; 2013.
11. Tang YW, Stratton CW. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*. New York: Springer; 2012.
12. Nuriya H, Inoue K, Tanaka T, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, et al. Detection of hepatitis B and C viruses in almost all hepatocytes by modified PCR-based *in situ* hybridization. *J Clin Microbiol*. 2010;48(11):3843–51. <https://doi.org/10.1128/JCM.00415-10>
13. Разработка нового метода диагностики вирусных заболеваний на ранних стадиях. Отчет о НИР (промежуточный). ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора; рук. Нетесова Н.А.; исполн.: Евдокимов А.А. и др. М.; 2017. 24 с. № ГР НИР АААА-А16-116040810107-1. Деп. в ЦИТИС 28.02.2017, № ИКРБС АААА-Б17-217022820201-7. [Development of a new method for the diagnosis of viral diseases in the early stages. Research report (intermediate). FBUN GNTS VB «Vektor» Rospotrebnadzora; advisors: Netesova NA; prepared by: Evdokimov AA, et al. Moscow; 2017. 24 p. No. SR АААА-А16-116040810107-1. Deposited in CITIS on 28.02.2017, No IKRBS АААА-Б17-217022820201-7 (In Russ.)]
14. Cobo F. Application of molecular diagnostic techniques for viral testing. *Open Virol J*. 2012;6:104–14. <https://doi.org/10.2174/1874357901206010104>
15. Chauhan H, Kher H, Chandel B, Dadawala A, Jain L. Evaluation of group specific nested PCR for detection of Bluetongue virus. *Vet World*. 2009;2(5):179–82.
16. Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(4):559–70.
17. Ito K, Shimizu N, Watanabe K, Saito T, Yoshioka Y, Sakane E, et al. Analysis of viral infection by multiplex polymerase chain reaction assays in patients with liver dysfunction. *Intern Med*. 2013;52(2):201–11.
18. Wang D, Urisman A, Liu YT, Springer M, Ksiazek TG, Erdman DD, et al. Viral discovery and sequence recovery using DNA microarrays. *PLoS Biol*. 2003;1(2):E2. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0000002>
19. Ситько ВЛ, Куксова АН, Евдокимова ИИ, Нетесова НА, Дегтярев СХ. Разработка простого метода получения высокоочищенной ДНК, связанной с клетками крови. *Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2014;13(4):50–5. [Sitko VL, Kuksova AN, Evdokimova II, Netesova NA, Degtyarev SKh. Development of a simple method for obtaining highly purified blood cell-related DNA. *Voprosy gematologii/onkologii i immunopatologii v pediatrii = Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2014;13(4):50–5 (In Russ.)]
20. Tamkovich SN, Bryzgunova OE, Rykova EY, Permyakova VI, Vlassov VV, Laktionov PP. Circulating nucleic acids in blood of healthy male and female donors. *Clin Chem*. 2005;51(7):1317–9.
21. Lee AY, Lee CS, Van Gelder RN Scalable metagenomics alignment research tool (SMART): a scalable, rapid, and complete search heuristic for the classification of metagenomic sequences from complex sequence populations. *BMC Bioinformatics*. 2016;17:292. <https://doi.org/10.1186/s12859-016-1159-6>
22. Cadwell K. The virome in host health and disease. *Immunity*. 2015;42(5):805–13. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.05.003>
23. Barzon L, Lavezzo E, Costanzi G, Franchin E, Toppo S, Palù G. Next-generation sequencing technologies in diagnostic virology. *J Clin Virol*. 2013;58(2):346–50. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2013.03.003>
24. Lavezzo E, Barzon L, Toppo S, Palù G. Third generation sequencing technologies applied to diagnostic microbiology: benefits and challenges in applications and data analysis. *Expert Rev Mol Diagn*. 2016;16(9):1011–23. <https://doi.org/10.1080/14737159.2016.1217158>
25. Gravina S, Sedivy JM, Vijg J. The dark side of circulating nucleic acids. *Aging Cell*. 2016;15(3):398–9. <https://doi.org/10.1111/acer.12454>
26. Chiu CY. Viral pathogen discovery. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(4):468–78. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.05.001>
27. Batty EM, Wong TH, Trebes A, Argoud K, Attar M, Buck D, et al. A modified RNA-Seq approach for whole genome sequencing of RNA viruses from faecal and blood samples. *PLoS One*. 2013;8(6):e66129. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066129>
28. Hall RJ, Wang J, Todd AK, Bissielo AB, Yen S, Strydom H, et al. Evaluation of rapid and simple techniques for the enrichment of viruses prior to metagenomic virus discovery. *J Virol Methods*. 2014;195:194–204.
29. Li L, Deng X, Mee ET, Collet-Teixeira S, Anderson R, Schepelmann S, et al. Comparing viral metagenomics methods using a highly multiplexed human viral pathogens reagent. *J Virol Methods*. 2015;213:139–46. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2014.12.002>
30. Breitbart M, Rohwer F. Method for discovering novel DNA viruses in blood using viral particle selection and shotgun sequencing. *Biotechniques*. 2005;39(5):729–36. <https://doi.org/10.2144/000112019>
31. Choi K, Ryu H, Siddle KJ, Piantadosi A, Freimark L, Park DJ, et al. Negative selection by spiral inertial microfluidics improves viral recovery and sequencing from blood. *Anal Chem*. 2018;90(7):4657–62. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b05200>
32. Wylie TN, Wylie KM, Herter BN, Storch GA. Enhanced virome sequencing using targeted sequence capture. *Genome Res*. 2015;25(12):1910–20. <https://doi.org/10.1101/gr.191049.115>
33. O'Flaherty BM, Li Y, Tao Y, Paden CR, Queen K, Zhang J, et al. Comprehensive viral enrichment enables sensitive respiratory virus genomic identification and analysis by next generation sequencing. *Genome Res*. 2018;28(6):869–77. <https://doi.org/10.1101/gr.226316.117>

34. Radford AD, Chapman D, Dixon L, Chantrey J, Darby AC, Hall N. Application of next-generation sequencing technologies in virology. *J Gen Virol.* 2012;93(Pt9):1853–68. <https://doi.org/10.1099/vir.0.043182-0>
35. Wylie KM, Weinstock GM, Storch GA. Emerging view of the human virome. *Transl Res.* 2012;160(4):283–90. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.03.006>
36. Parker MT. An ecological framework of the human virome provides classification of current knowledge and identifies areas of forthcoming discovery. *Yale J Biol Med.* 2016;89(3):339–51.
37. Vu DL, Kaiser L. The concept of commensal viruses almost 20 years later: redefining borders in clinical virology. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(10):688–90. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.03.005>
38. Hino S, Miyata H. Torque teno virus (TTV): current status. *Rev Med Virol.* 2007;17(1):45–57. <https://doi.org/10.1002/rmv.524>
39. Lecuit M, Eloit M. The human virome: new tools and concepts. *Trends Microbiol.* 2013;21(10):510–5. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.07.001>
40. Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining chronic viral infection. *Cell.* 2009;138(1):30–50. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.06.036>
41. De Vlaminck I, Khush KK, Strehl C, Kohli B, Luikart H, Neff NF, et al. Temporal response of the human virome to immunosuppression and antiviral therapy. *Cell.* 2013;155(5):1178–87. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.034>
42. Moustafa A, Xie C, Kirkness E, Biggs W, Wong E, Turpaz Y, et al. The blood DNA virome in 8,000 humans. *PLoS Pathog.* 2017;13(3):e1006292. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006292>
43. Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, eds. *Principles and Practice of Clinical Virology.* Oxford: Wiley-Blackwell; 2009.
44. Mokili JL, Rohwer F, Dutilh BE. Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr Opin Virol.* 2012;2(1):63–77. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.12.004>
45. Grard G, Fair JN, Lee D, Slikas E, Steffen I, Muyembe JJ, et al. A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. *PLoS Pathog.* 2012;8(9):e1002924. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002924>
46. Tan le V, van Doorn HR, Nghia HD, Chau TT, Tu le TP, de Vries M, et al. Identification of a new cyclovirus in cerebrospinal fluid of patients with acute central nervous system infections. *MBio.* 2013;4(3):e00213–31. <https://doi.org/10.1128/mBio.00231-13>
47. Xu B, Liu L, Huang X, Ma H, Zhang Y, Du Y, et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan Province, China: discovery of a new bunyavirus. *PLoS Pathog.* 2011;7(11):e1002369. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002369>
48. McMullan LK, Frace M, Sammons SA, Shoemaker T, Balinandi S, Wamala JF, et al. Using next generation sequencing to identify yellow fever virus in Uganda. *Virology.* 2012;422(1):1–5. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.08.024>
49. Brown JR, Bharucha T, Breuer J. Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases. *J Infect.* 2018;76(3):225–40. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2017.12.014>
50. Towner JS, Sealy TK, Khristova ML, Albariño CG, Conlan S, Reeder SA, et al. Newly discovered Ebola virus associated with hemorrhagic fever outbreak in Uganda. *PLoS Pathog.* 2008;4(11):e1000212. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000212>
51. Chiu CY, Bres V, Yu G, Krysztof D, Naccache SN, Lee D, et al. Genomic assays for identification of Chikungunya virus in blood donors, Puerto Rico, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2015;21(8):1409–13. <https://doi.org/10.3201/eid2108.150458>
52. Bibby K. Metagenomic identification of viral pathogens. *Trends Biotechnol.* 2013;31(5):275–9. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.016>
53. Posada-Céspedes S, Seifert D, Beerenwinkel N. Recent advances in inferring viral diversity from high-throughput sequencing data. *Virus Res.* 2016;239:17–32. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.09.016>
54. Gibson RM, Schmotzer CL, Quiñones-Mateu ME. Next-generation sequencing to help monitor patients infected with HIV: ready for clinical use? *Curr Infect Dis Rep.* 2014;16(4):401. <https://doi.org/10.1007/s11908-014-0401-5>
55. Rasmussen AL, Katze MG. Genomic signatures of emerging viruses: a new era of systems epidemiology. *Cell Host Microbe.* 2016;19(5):611–8. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.016>
56. Smith I, Wang LF. Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans. *Curr Opin Virol.* 2013;3(1):84–91. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>
57. Walsh GM, Shih AW, Solh Z, Golder M, Schubert P, Fearon M, Sheffield WP. Blood-borne pathogens: a Canadian blood services centre for innovation symposium. *Transfus Med Rev.* 2016;30(2):53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2016.02.003>
58. Lau P, Cordey S, Brito F, Tirefort D, Petty TJ, Turin L, et al. Metagenomics analysis of red blood cell and fresh-frozen plasma units. *Transfusion.* 2017;57(7):1787–1800. <https://doi.org/10.1111/trf.14148>
59. Sauvage V, Gomez J, Boizeau L, Laperche S. The potential of viral metagenomics in blood transfusion safety. *Transfus Clin Biol.* 2017;24(3):218–22. <https://doi.org/10.1016/j.traccl.2017.06.018>

Об авторах

Абдурашитов Мурат Абдурашитович, канд. биол. наук, заведующий лабораторией эпигенетики отдела производства и применения средств ПЦР диагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9402-5254>

Нетесова Нина Александровна, д-р биол. наук, заведующая отделом разработки средств ПЦР диагностики вирусных и риккетсиозных заболеваний ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3380-9573>

Поступила 09.11.2018

После доработки 15.11.2018

Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Murat A. Abdurashitov, Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Epigenetics, Department of Production and Use of PCR Tools for Viral and Rickettsial Diseases Diagnostics of the State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9402-5254>

Nina A. Netesova, Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Development of PCR Tools for Viral and Rickettsial Diseases Diagnostics of the State Research Center of Virology and Biotechnology Vector, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-3380-9573>

Received 9 November 2018

Revised 15 November 2018

Accepted 15 November 2018

Мировая практика хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинических целях

О. А. Рачинская*, А. А. Чапленко, Е. В. Мельникова, И. С. Семенова, Ю. В. Олефир

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

В настоящее время в Российской Федерации практически отсутствует контролируемый государством рынок банков клеток (БК), содержащих на хранении клеточный материал, потенциально применимый для клинических целей. Криоконсервация клеток в БК является важным этапом производства ряда биомедицинских клеточных продуктов и позволяет преодолеть трудности, с которыми сталкиваются производители при наработке и хранении больших объемов клеточного материала. На сегодняшний день существует большое число клеточных линий человеческого происхождения, которые хранятся в БК коммерческих и государственных организаций разных стран. Кроме того, происходит ежегодное депонирование новых линий клеток. Все это затрудняет поиск клеточного материала с необходимыми для производства свойствами и материала, потенциально применимого в качестве донорского в клинике. Настоящая работа посвящена исследованию мировой практики хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинических целях. В результате исследования проведена систематизация существующих в мире БК, а также осуществлен анализ нормативной документации разных стран, регулирующей деятельность этих банков. Обнаружена тенденция к образованию БК, часто специализирующихся на определенных типах клеток, а также созданию реестров, дающих полную информацию о линиях клеток с данными научно-прикладного характера о них. С развитием и все большим внедрением в клиническую практику препаратов для клеточной терапии в мире и в Российской Федерации ожидается увеличение числа БК и реестровых систем, а также объемов хранящихся в них материалов, в том числе клеточных линий, предназначенных для применения в клинических целях.

Ключевые слова: линии клеток; банки клеток; реестры клеточных линий; биомедицинские клеточные продукты; регенеративная медицина

Для цитирования: Рачинская ОА, Чапленко АА, Мельникова ЕВ, Семенова ИС, Олефир ЮВ. Мировая практика хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинических целях. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(4):216–224. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-216-224>

Контактное лицо: Рачинская Ольга Анатольевна; Rachinskaya@expmed.ru

International Practice of Storing Human Cell Lines Intended for Clinical Use

О. А. Rachinskaya*, А. А. Chaplenko, Е. V. Melnikova, I. S. Semenova, Yu. V. Olefir

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

Currently, the Russian Federation does not have a well-established state-controlled market for cell banks (CB) containing cell material that is potentially applicable for clinical purposes. Cryopreservation of cells in cell bank (CB) is an important step in the production of a number of biomedical cell products and makes it possible to overcome difficulties faced by manufacturers during production and storage of large amounts of cell material. At present there are a large number of human cell lines in the world, which are stored in CB owned by commercial and public organisations in different countries. In addition, new cell lines are being banked every year. All this makes it difficult to find cell material suitable for production purposes or that could potentially be used as donor material in clinics. This study analysed the international practice of storing human cell lines for clinical use. The authors of the study systematised the existing CB worldwide and analysed regulatory documents governing the activities of these banks in different countries. The analysis revealed a trend towards formation of CB, often specialising in certain types of cells, as well as a trend towards creation of registries giving full information about cell lines including data on their scientific application. The increasing development and clinical use of cell therapy products in the Russian Federation and abroad will most likely lead to the increase in the number of CB and registry systems, as well as amounts of materials stored in them, including cell lines intended for clinical use.

Key words: cell lines; cell banks; cell line registries; biomedical cell products; regenerative medicine

For citation: Rachinskaya OA, Chaplenko AA, Melnikova EV, Semenova IS, Olefir YuV. International practice of storing human cell lines intended for clinical use. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2018;18(4):216–224. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-216-224>

Corresponding author: Olga A. Rachinskaya; Rachinskaya@expmed.ru

В последнее время наблюдается значительный рост интереса мирового сообщества не только к научному и технологическому развитию регенеративной медицины и клеточной терапии, но и к коммерциализации продуктов в данных областях. По оценкам экспертов, ожидается увеличение мирового рынка лекарственных препаратов для клеточной и генной терапии, тканевой инженерии и комбинированных продуктов с 2016 по 2023 г. со среднегодовым темпом роста (compound annual growth rate) в 32,2 %¹. Более 800 продуктов регенеративной медицины, принадлежащих 700 компаниям-разработчикам, находятся на разных стадиях клинических исследований. Данные препараты предназначены для лечения онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, инфекционных и иммунных заболеваний, нарушений метаболизма и расстройств опорно-двигательного аппарата, орфанных заболеваний, а также для применения в косметологии [1, 2]. Несмотря на значительный прогресс в области регенеративной медицины существует и ряд трудностей на разных этапах создания препаратов. Одной из проблем является внедрение в медицинскую практику аллогенных препаратов клеточной терапии. Помимо взаимодействия чужеродных клеток с иммунной системой реципиента много вопросов связано с техническими аспектами, в том числе с наработкой большого объема стандартизованного клеточного материала, а также с возможностью длительного хранения такого материала. Таким образом, требуется создание охарактеризованных согласно требованиям надлежащих практик и других нормативно-правовых документов банков клеток (БК): главных БК и рабочих БК. Характеристика линий, заложенных в банк, как правило, должна включать определение специфического фенотипа и генотипа клеток, пролиферативного потенциала, генетической стабильности, стерильности, отсутствия вирусной и микоплазменной контаминации [3].

БК и реестры становятся важным ресурсом международного доступа к клеточным линиям разного происхождения и назначения (для использования в научных и клинических целях), качество которых находится в большинстве стран под надзором органов контроля. БК представляют собой коллекции клеточных материалов, данные по которым систематизированы (например, UK Stem Cell Bank, WiCell International Stem Cell Bank). Реестры клеточных линий (например, International Stem Cell Registry) представляют собой виртуальные базы данных или каталоги линий клеток, хранящиеся на базе различных организаций (биобанков, лабораторий, клиник, производственных площадок и др.). БК и реестры имеют взаимодополняющее значение.

При классификации банков стволовых клеток (СК) Rosario M. Isasi и Bartha M. Knoppers [4] выделяют:

- государственные банки общего пользования (UK Stem Cell Bank; Valencia Stem Cell Bank);
- банки при организациях (Tel Aviv Sourasky Medical Center Cell Bank);
- коммерческие банки (WiCell International Stem Cell Bank);
- локальные банки при лабораториях (Kyoto University, France Biomedical Agency);
- специализированные централизованные банки, которые предоставляют материал для научно-исследовательских институтов и лабораторий (UK Stem Cell Bank, Singapore Stem Cell Bank);
- национальные центры хранения, специализирующиеся на клетках определенного типа, доступные для широкого круга исследователей (Indian National Centre for Stem Cell Science).

Кроме того, под БК понимают и международные реестры клеточных линий (International Stem Cell Registry, European Human embryonic stem cell Registry) [4].

Цель работы — исследование мировой практики хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинической практике.

История создания банков стволовых клеток

История развития клеточной терапии насчитывает уже более пяти десятилетий. Первоначально она нашла применение для борьбы с такими тяжелыми заболеваниями крови, как лейкомия, для лечения которых требовался источник «новых» гемопоэтических клеток [5–7]. Французский онколог G. Mathe совершил первую трансплантацию костного мозга (КМ) в 1959 г. пациентам, получившим большую дозу облучения. В этом же году были осуществлены две успешные трансплантации КМ детям с врожденным иммунодефицитом [5]. Трансплантация СК, полученных из КМ, была впервые осуществлена группой исследователей и врачей под руководством нобелевского лауреата 1990 года E. Donnall Thomas в США [6]. За последующие годы трансплантация СК КМ получила широкое распространение при лечении ряда онкологических и гематологических заболеваний, нарушений иммунной системы и обмена веществ [7].

Сложности в подборе доноров для аллогенных трансплантаций и в осуществлении процедуры забора материала привели к поискам других источников гемопоэтических клеток, таких как периферическая и пуповинная кровь (ПК) [8]. Преимуществом использования СК из ПК является возможность трансплантации частично совместимых образцов по системе главного комплекса гистосовместимости (Human Leucocyte Antigen, HLA), а также возможность длительного хранения тестированных и HLA-типированных образцов [9]. Необходимость наработки большого количества клеточного материала и возможность его длительного хранения привели к созданию по всему миру криобанков, целью работы которых стало обеспечение качества и безопасности донорского материала [10, 11]. В мире существуют банки ПК двух типов [12]:

- частные коммерческие банки, где хранятся именные образцы ПК, финансируемые частными лицами, имеющими впоследствии возможность использования своего материала, хранящегося в банке;
- некоммерческие донорские банки, в которых безвозмездно закладываются образцы крови для дальнейшей аллогенной трансплантации.

Во многом благодаря развитию глобальной сети банков ПК в 2009 г. число трансплантаций ПК превысило число трансплантаций костного мозга [13, 14].

С развитием регенеративной медицины возникла необходимость хранения не только гемопоэтических, но и мезенхимальных стволовых клеток (МСК), получаемых как из КМ и периферической крови, так и из жировой ткани (ЖТ), пульпы зубов и других тканей, имеющих соединительнотканый компонент [15]. Обеспечения большого числа пациентов препаратами на основе клеток невозможно достигнуть при использовании непрерывного процесса культивирования клеток. Для этого необходимо производить и сохранять (криоконсервировать) большие партии клеток, а значит необходимо создавать БК [16]. В последнее время в мире наблюдается тенденция к образованию крупномасштабных банков и систем для хранения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и СК с индуци-

¹ Global Regenerative Medicines Market Overview. Allied Market Research, 2016. <https://www.alliedmarketresearch.com/press-release/regenerative-medicines-market.html>

рованной плюрипотентностью (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, ИПСК)².

Создание и функционирование БК различного происхождения зависит от действующих законодательных норм разных стран по работе с тем или иным клеточным материалом. Так, в разных странах мира отсутствует единый подход к использованию ЭСК. Например, в США для исследований могут быть использованы только линии ЭСК, полученные до 9 августа 2001 г. По данным Национального института здоровья (National Institutes of Health, NIH) США, количество таких линий составляет 11. Во Франции, помимо работы с уже существующими линиями ЭСК, существует возможность получения новых клеточных линий для терапевтического клонирования органов и тканей больного человека. В Великобритании, Бельгии, Швеции разрешено получение линий ЭСК из предимплантационных зародышей (до 14-го дня развития) и их хранение в криобанках. В Германии и Швейцарии запрещено получение ЭСК, но разрешено использование ввезенных из других стран ЭСК, а также получение СК из тканей взрослого человека. В Японии также разрешено клонировать предимплантационные зародыши для выделения ЭСК и создания банков из ЭСК производных линий. В настоящее время ведутся активные исследования по получению линий ЭСК человека в Индии и Китае [17].

Современная законодательная база всех стран, даже тех, в которых разрешено получение и работа с ЭСК человека, направлена на регулирование и снижение числа появления новых линий в связи с аспектами, предъявляемыми морально-этическими комитетами этих стран. Так, комитетом по исследованиям стволовых клеток Великобритании (The Committee on Stem Cell Research) были составлены рекомендации по необходимости снижения числа исследовательских организаций, которые могли бы получать новые клеточные линии СК, что, в свою очередь, привело бы к снижению востребованности в научных кругах человеческих тканей и эмбрионов³.

Общество по вопросам репродукции человека и эмбриологии (Human Fertilisation and Embryology Authority, HFEA) требует при лицензировании новых выделенных клеточных линий ЭСК человека обязательное депонирование их в банке СК Великобритании⁴. Аналогичным образом, во Франции и Испании все линии СК, вне зависимости от того, созданы они были на средства частного или государственного финансирования, должны быть депонированы в соответствующих национальных БК. В Национальном банке стволовых клеток США также необходимо закладывать все плюрипотентные клеточные линии, полученные с использованием федеральных средств [4].

Банки линий клеток, предназначенных для целей клинического применения

В мире существует большое число различных по назначению и организации банков, в которых хранятся линии клеток, предназначенные для применения в клинических целях. Все эти банки условно можно разделить на следующие группы:

1. Государственные некоммерческие банки. Большинство существующих на данный момент клеточных линий, потенциально применимых в клинической практике, охарактеризовано и находится на хранении в крупных государственных некоммерческих банках. Главная задача таких банков — системати-

зация и упрощение работы с линиями клеток различных научных и коммерческих структур. В основном такие БК хранят линии СК разного происхождения. Линии дифференцированных соматических клеток встречаются намного реже.

Одним из первых, в 2002 г., был создан банк СК Великобритании (UK Stem Cell Bank), который в настоящий момент представляет собой международный ресурс для исследования и клинического применения СК. Банк СК Великобритании является частью инфраструктуры по регенеративной медицине, осуществляя банкирование фетальных, эмбриональных и постнатальных СК человека, полученных от доноров как внутри страны, так и за ее пределами при условии, что клеточный материал соответствует требованиям, предъявляемым Руководящим комитетом Великобритании (UK Steering Committee), изложенным в Кодексе практики использования линий СК человека (UK Code of Practice for the Use of Human Stem Cell Lines). Клеточные линии подготовлены к хранению с соблюдением требований Надлежащей производственной практики (GMP), препятствующих возникновению риска контаминации и гарантирующих их безопасность. Доступ к линиям клеток могут получить исследователи из академических учреждений, фармацевтические компании, а также другие государственные и коммерческие структуры Великобритании и других стран. Банк поставляет два типа клеток: для использования в лабораторных/научных целях («laboratory» grade stem cell lines) и клинических целях («clinical» grade stem cell lines). Первый тип линий клеток не может быть использован в клинических целях. Исследования, связанные с такими линиями, не могут проводиться на людях. Эмбриональные стволовые клетки можно использовать только для получения знаний, связанных с процессами эмбриогенеза, или знаний о серьезных заболеваниях человека и способах их лечения. Банкирование новых линий СК осуществляется при оформлении согласия от донора и под контролем комитета по этике (Research Ethics Committee), а в случае банкирования ЭСК человека еще и Кодексом практики использования линий СК человека (UK Code of Practice for the Use of Human Stem Cell Lines)⁵.

Еще одним крупным проектом по созданию общей системы обращения СК в научных и коммерческих целях является Европейский банк для индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (European Bank for induced pluripotent Stem Cells, EBiSC), созданный при поддержке центра по развитию инновационной медицины (Innovative Medicines Initiative) и Европейской федерации фармацевтических производителей и ассоциаций (European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations). EBiSC был разработан для удовлетворения растущего спроса на качественные, пригодные для исследовательских и клинических целей линии ИПСК.

EBiSC представляет централизованную некоммерческую структуру, состоящую из большого числа площадок разных стран Европы, осуществляющих различные типы деятельности, связанные с ИПСК, и упрощающую взаимоотношения между ними, в том числе нескольких БК. В этих банках на настоящий момент хранится более 500 линий ИПСК, полученных от здоровых доноров разных возрастов, линий, служащих моделями нейродегенеративных заболеваний, мышечных дистрофий, болезней сердечно-сосудистой системы и глаз, а также линий фибробластов кожи, СК из ЖТ, периферической крови, КМ.

² Официальный сайт European Bank for induced pluripotent Stem Cells. <https://www.ebisc.org>

³ UK Stem Cell Bank. 2010. Code of Practice for the Use of Human Stem Cell Lines. Stem Cell Steering Committee. London. <https://mrc.ukri.org/documents/pdf/code-of-practice-for-the-use-of-human-stem-cell-lines/>

⁴ Human Fertilisation and Embryology Act 1990 (amended 26 November 2008). http://webarchive.nationalarchives.gov.uk/20130103185616/http://www.dh.gov.uk/prod_consum_dh/groups/dh_digitalassets/@dh/@en/documents/digitalasset/dh_080206.pdf

⁵ Официальный сайт UK Stem Cell Bank. <http://www.nibsc.org/ukstemcellbank>

Система рассчитана на хранение 10000 образцов и может обрабатывать тысячу линий в год.

Примеры крупных зарубежных БК приведены в таблице 1. Следует отметить, что существует гораздо большее число некоммерческих государственных банков. Однако многие банки, заявляя о хранении на их базе клеток, которые могут быть использованы для производства препарата для клеточной терапии и применения в клинической практике, не раскрывают перечни (каталоги) конкретных клеточных линий в открытом доступе (сайты в сети Интернет, литературные источники).

2. Производственные банки клеток. С развитием регенеративной медицины увеличивается число БК, созданных для обеспечения клеточным материалом конкретных коммерческих организаций, осуществляющих производство препаратов на основе клеток для медицинского применения. Депонированные в банки на данный момент клеточные линии используются преимущественно для производства аллогенных препаратов.

Так, для производственных нужд корпорации создан БК при Organogenesis (США), производящий такие лекарственные средства в области регенеративной медицины, как Apligraf, Gentuit, Dermograft, используемые для заживления ран и регенерации мягких тканей [18].

Хранение используемых в производстве клеточных линий в собственном БК осуществляет и американская компания BioE, которая занимается как разработкой инструментально-технологической базы, так и внедрением на рынок медицинских

услуг СК, полученных из ПК человека, а также препаратов для регенеративной медицины на их основе. С помощью технологии PreraCute из одной СК, выделенной из ПК, компанией были получены множественные клеточные линии — Multi-Lineage Progenitor Cell™ (MLPC™). Способность этих клеточных линий к дифференцировке в гепатоциты, остеобласты, нейроны постоянно контролируется и проверяется⁶.

Компания Osiris Therapeutics, Inc. (Колумбия) производит препараты на основе МСК из КМ и ПК для лечения реакции «трансплантат против хозяина», лечения болезни Крона и инфаркта миокарда (Osteocel, Remestemcel-L, Prochymal, Cartiform), для получения которых в коммерческом масштабе при производстве имеются криохранилища⁷.

3. Банки персонального хранения СК. Такие банки, как правило, образованы на базе уже существующих банков ПК и других биоматериалов. Обычно они осуществляют коммерческую деятельность по хранению именных образцов ткани и аутологичных линий СК.

Американская корпорация CryoStem (CRYO) с 2008 г. занимает лидирующие позиции в области биотехнологии и стандартизации процессов выделения, хранения и применения в регенеративной и персонализированной медицине как аутологичной ЖТ, так и выделением МСК ЖТ (ATCELL™) с последующим их культивированием, криоконсервацией, а также возможностью дальнейшей специфической дифференцировки в адипоциты, остеоциты или хондроциты⁸.

⁶ Официальный сайт «BioE LLC». <http://www.bioe.com>

⁷ Официальный сайт «Osiris Therapeutics, Inc». <http://www.osiris.com>

⁸ Официальный сайт «American CryoStem». <http://www.americancryostem.com>

Таблица 1. Примеры зарубежных банков клеточных линий, предназначенных для применения в клинических целях
Table 1. Examples of foreign cell banks intended for clinical use

Наименование	Страна	Тип клеток	Адрес сайта
European Bank for induced pluripotent Stem Cells (EBiSC), в том числе:	Страны ЕС	СК от здоровых доноров и клетки — модели заболеваний	https://www.ebisc.org
- Culture Collections of Public Health England (ECACC)	ВБ	ИПСК, лимфоциты, дифференцированные соматические клетки	https://www.phe-culturecollections.org.uk
- Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT)	Германия	ИПСК	https://www.ibmt.fraunhofer.de
- Charite Universitätsmedizin Berlin	Германия	ЭСК, фетальные СК, постнатальные СК	http://www.b-crt.de
- University of Newcastle Upon Tyne	ВБ	ЭСК, фетальные СК, ИПСК, дифференцированные соматические клетки	http://www.ncl.ac.uk/nesci
- Instituto de Salud Carlos III (Spanish Stem Cell Bank) (BNLC)	Испания	ИПСК от здоровых доноров и клетки — модели заболеваний	http://www.eng.isciii.es
- Center of Regenerative Medicine in Barcelona (CMR[B])	Испания	ЭСК, ИПСК	https://www.cmr.b.eu
- Principe Felipe Research Center (Valencia Stem Cell Bank)	Испания	ЭСК от здоровых доноров и клетки — модели заболеваний	http://www.cipf.es
UK Stem Cell Bank (UKSCB)	ВБ	ЭСК, фетальные СК, постнатальные СК	http://www.nibsc.org/ukstemcellbank
WiCell International Stem Cell Bank	США	ЭСК, ИПСК, ИПСК моделей заболеваний, генетически модифицированные ЭСК, нейральные прогениторные клетки	https://www.wicell.org
Stem Med	Сингапур	гемопоэтические СК, МСК ЖТ	http://stem-med.sg
RIKEN Bioresource Center	Япония	ЭСК, СК ПК, МСК, ИПСК	http://cell.brc.riken.jp/en/hes
NIBIOHN JCRB Cell Bank	Япония	МСК	http://cellbank.nibiohn.go.jp/english

Примечание. ВБ — Великобритания, СК — стволовые клетки, МСК — мезенхимальные стволовые клетки, ЭСК — эмбриональные стволовые клетки, ИПСК — стволовые клетки с индуцированной плюрипотентностью, ЖТ — жировая ткань, ПК — пуповинная кровь.

Выделение и депонирование МСК пульпы зубов осуществляет Provia Laboratories, LLC (США)⁹.

Интересный симбиоз представляет собой корейская компания MEDIPOST Co., Ltd, включающая как банк пуповинной крови для хранения именных образцов, так и высокотехнологичное производство препаратов для клеточной терапии. Компании принадлежит производство Cartistem — препарата, предназначенного для лечения дефектов коленного сустава, для аллогенного применения на основе МСК ПК; Pneumostem — препарата, предназначенного для лечения бронхолегочной дисплазии у недоношенных детей, для аллогенного применения на основе МСК ПК. На данный момент препарат прошел вторую фазу клинических исследований в Корее. Третий препарат на основе МСК ПК Neurostem — для лечения болезни Альцгеймера — проходит фазу 1/2а клинических исследований в Корее и готовится к клиническим исследованиям FDA в США¹⁰.

На базе Института биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси в Центре клеточных технологий в период 2010–2014 гг. был создан банк с целью криоконсервирования и хранения культур МСК ЖТ человека, используемых в медицинской практике. На долговременной основе в банке могут храниться материалы 13 тысяч пациентов, а на кратковременной — материалы 40 тысяч пациентов. В декабре 2014 г. в рамках государственной программы при этом же институте был открыт Республиканский научно-медицинский центр «Клеточные технологии», главное назначение которого заключается в лечении заболеваний с использованием аутологичных МСК ЖТ (ожоги, раны, пролежни, трофические язвы, болезни пародонта, лечение суставов и др.). Культура МСК ЖТ человека зарегистрирована как биомедицинский клеточный продукт (БМКП) в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь¹¹. В 2012–2014 гг. на базе Центра клеточных технологий создано производство БМКП, соответствующее международным стандартам GMP.

Особенности создания банков клеток, предназначенных для применения в клинических целях

Было доказано, что СК хорошо выдерживают заморозку без существенной потери жизнеспособности [20]. Несмотря на успехи, достигнутые в криоконсервации, хранение СК в масштабах банков сопряжено с некоторыми техническими трудностями. Одним из ключевых моментов является необходимость соблюдения правил GMP на протяжении всего технологического процесса: от забора до замораживания и хранения клеточного материала [21, 22]. Соблюдение правил GMP достигается, главным образом, внедрением стандартных операционных процедур и соответствующей программой обеспечения качества на производстве.

Кроме того, осуществляются трудоемкие и дорогостоящие работы по подтверждению сопоставимости между клеточным материалом из разных источников (мастер-банков). Решение таких задач осложняется наличием большого числа клеточных линий, полученных до разработки и внедрения в практику принципов GMP [18].

Другой важный момент — разработка и использование реагентов класса GMP, нетоксичных криопротекторов и свободных от белка животного происхождения сывороток, которые будут применяться для выделения, культивирования и криоконсервации клеток. Опасность использования сывороток с белками животного происхождения заключается в трудности удаления белков из клеточной суспензии, так как их наличие в конечном продукте может привести к возникновению нежелательных реакций у пациентов при трансплантации таких клеток [15]. Использование аутологических сывороток тоже сопряжено с рядом трудностей¹²: процесс их производства дорогостоящий и требует предоперационного донорства крови у пациента [23].

Необходимо отметить проблему подтверждения подлинности клеточного материала, входящего в состав готового продукта и клеточной линии-предшественницы. Подобные проблемы отмечаются и при производстве таких клеточных продуктов, как Apligraf и Gintuit (Organogenesis, США). Из-за большого числа производственных особенностей, приводящих к изменению характеристик клеток и их пролиферативной активности, компания регулярно заменяет клеточные линии мастер-банка. Поэтому компания разработала протоколы подтверждения сопоставимости (идентичности) новых клеточных линий с ранее использованными. При изготовлении препарата Apligraf каждая новая клеточная линия характеризуется по показателям качества, безопасности, морфологии клеток и функциональности трехмерной конструкции препарата, утвержденным FDA, чтобы подтвердить ее сопоставимость с ранее используемой клеточной линией¹³.

Следует уделять внимание хранению, упаковке и транспортированию клеточного материала, предотвращению возможности инфекционной кросс-контаминации между образцами и между персоналом и материалом [21].

Реестры клеточных линий, предназначенных для применения в клинических целях

Разветвленная сеть государственных и коммерческих банков по всему миру часто затрудняет работу клиник, научных центров, органов регуляции и надзора и других заинтересованных сторон, осложняя подбор донорского материала и определенных линий клеток с необходимыми специфическими характеристиками. Поэтому в мире создаются разнообразные реестры исходных донорских материалов (например, пуповинной и периферической крови, костного мозга), а также заложенных на хранение линий клеток различного происхождения и хранящихся в БК разных стран мира. Чаще всего встречаются реестры СК человека, в том числе гемопоэтических СК, ЭСК и ИПСК.

Так, при поддержке Центра наук о жизни Массачусетса (Massachusetts Life Sciences Center) совместно с Гарвардским институтом стволовых клеток (Harvard Stem Cell Institute) был создан международный реестр СК (International Stem Cell Registry). Он был организован для создания доступной базы данных по существующей информации о СК человека: в том числе ЭСК и ИПСК. Реестр включает информацию о клеточных линиях от некоммерческих организаций, академических центров,

⁹ Официальный сайт «Provia Laboratories, LLC». <http://www.store-a-tooth.com>

¹⁰ Официальный сайт компании «Medipost Co., Ltd». <http://www.medi-post.com>

¹¹ Государственный реестр БМКП республики Беларусь, № БМКП-7.103082 от 31.07.2015. <http://celltech.by/>

¹² EudraLex. The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. V. 4. Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medical Products. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2017_11_22_guidelines_gmp_for_atmps.pdf

¹³ Gintuit. Highlights of prescribing information. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM295525.pdf>

банков СК и промышленности, базирующейся в США и других странах мира¹⁴.

Реестр плюрипотентных СК человека (Human Pluripotent Stem Cell Registry) является общедоступным глобальным реестром линий плюрипотентных СК человека и дает возможность осуществить подробный обзор текущего состояния исследований с их использованием, а также производить поиск линий клеток с полной информацией о них. Любой ученый или учреждение могут зарегистрировать в реестре полученные имитации линии СК при подтверждении их характеристик¹⁵.

Нормативные документы по регулированию создания и деятельности банков клеток

С широким разнообразием банков и разнородностью хранящихся в них образцов клеток сопряжен целый ряд трудностей регуляторного характера, которые усугубляются отсутствием современной и адекватной нормативно-правовой базы, позволяющей эффективно взаимодействовать различным отраслям здравоохранения и производства, научным базам и организациям по хранению подобного биоматериала.

Стандарты по организации БК, используемых для применения в клинических целях, отражены в ряде документов ведущих регуляторных органов США, Европы и Японии, которые гармонизированы между собой:

1. U.S. Food and Drug Administration: Current Good Manufacturing Practice (cGMP) guidelines:

- Current Good Manufacturing Practice (cGMP) guidelines — 21 CFR 1271, разделы 210, 211, 610¹⁶;

- Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy¹⁷.

2. European Medicines Agency:

- Guideline on human cell-based medicinal products¹⁸;

- Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products.

3. International Conference on Harmonisation:

- Viral Safety Evaluation for Cells of Human or Animal Origin (Q5A)¹⁹;

- Derivation and characterization of cell substrates (Q5D)²⁰.

В Правилах проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза (решение № 89)²¹, к которым относится группа высокотехнологических препаратов, включая лекарственные препараты на

основе клеток (решение № 78)²², приводится определение БК, а также указываются рекомендации по его созданию и поддержанию, которые не противоречат нормативным документам ЕС, США и Японии, но не гармонизированы с ними.

Опыт создания банков клеток, предназначенных для применения в клинических целях, в Российской Федерации

В настоящее время в Российской Федерации наблюдается увеличение интереса к возможности хранения биологического материала с последующим трансплантированием клеточной массы или даже получения из него определенного типа клеток (например, СК) при необходимости лечения ряда заболеваний. В связи с этим появляется все большее число банков ПК и других тканей человека, в основном персональных банков, осуществляющих хранение материала на коммерческой основе.

В ряде банков персонального и/или общественного хранения биоматериалов, в основном ПК, есть возможность банкирования гемопоэтических СК или МСК, полученных из различных тканей. Подобной деятельностью занимается ряд коммерческих структур, таких как ООО «Транс-Технологии»²³, ООО «Криоцентр»²⁴, «Гемабанк»²⁵, банк СК при клинике «Мать и дитя»²⁶, Краевой клинический центр г. Владивостока²⁷, а также государственных бюджетных учреждений, например, Оренбургский банк СК, организованный на базе Оренбургской областной клинической станции переливания крови, или донорский банк СК (БСК) ПК на базе станции переливания крови Департамента здравоохранения города Москвы²⁸. В Покровском банке СК осуществляется криозамораживание концентрата СК из крови доноров: выделение с последующим полным обследованием согласно международным стандартам и хранением клеток CD34⁺ из ПК. Кроме того, на базе этого банка разработаны технологии подготовки клеточных продуктов, предназначенных для лечения аллергических реакций, аутоиммунных заболеваний, ожогов, ишемии нижних конечностей, неврологических заболеваний, трофических язв, а также в травматологии, ортопедии и стоматологии²⁹.

В Центре биомедицинских технологий, созданном при Федеральном медицинском биофизическом центре им. А.И. Бурназяна, создан криобанк, в котором осуществляется депонирование клеток и тканей человека из различных источников для потенциального клинического применения. Помимо этого, в криобанке ведется реестр и резервное хранение всех клеточ-

¹⁴ Официальный сайт «International Stem Cell Registry» in the University of Massachusetts Medical School». <https://www.umassmed.edu/isrc/>

¹⁵ Официальный сайт «Human Pluripotent Stem Cell Registry». <https://hpscereg.eu>

¹⁶ U.S. FDA. Current Good Manufacturing Practice (CGMP) Regulations <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM081670.pdf>

¹⁷ U.S. FDA. Guidance for Industry. Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM081670.pdf>

¹⁸ EMEA/CHMP Guideline on human cell-based medicinal products (CPMP/BWP/410869/2006). http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003894.pdf

¹⁹ ICH harmonized tripartite guideline. Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin Q5A (R1). http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5A_R1/Step4/Q5A_R1_Guideline.pdf

²⁰ CPMP/ICH/294/95 ICH harmonized tripartite guideline. Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products, Q5D. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5D/Step4/Q5D_Guideline.pdf

²¹ Совет Евразийской экономической комиссии. Решение № 89 от 03.11.2016. Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза.

²² Совет Евразийской экономической комиссии. Решение № 78 от 03.11.2016. О Правилах регистрации и экспертизы лекарственных средств для медицинского применения.

²³ Официальный сайт Санкт-Петербургского банка стволовых клеток ООО «Транс-Технологии». <http://cbio.ru/company/id/5019/>

²⁴ Официальный сайт ООО «КриоЦентр». <https://www.cryocenter.ru/tech>

²⁵ Официальный сайт банка стволовых клеток «Гемабанк». <http://gemabank.ru/nashi-uslugi/hranenie>

²⁶ Официальный сайт Перинатального Медицинского Центра «Мать и дитя». <http://mamadeti.ru>

²⁷ Официальный сайт Краевого клинического центра специализированных видов медицинской помощи. <http://kkcsvmp.ru>

²⁸ Официальный сайт ГБУЗ города Москвы «Центр крови им. О.К. Гаврилова ДЗМ». <https://www.spkdzm.ru>

²⁹ Официальный сайт Покровского банка стволовых клеток. <http://stemcellbank.spb.ru>

ных продуктов, разработанных и подготовленных к применению в Центре³⁰.

В настоящий момент в Российской Федерации преобладают разработки аутологичных препаратов, для производства которых создание БК не требуется. Число препаратов на основе клеток аллогенного происхождения намного меньше. Однако разработки таких препаратов и их испытания проводятся в ряде научных и медицинских центров. Так, например, в Научном центре акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова имеются экспериментальные образцы культур клеток, используемые для разработки суспензионной тканеинженерной конструкции для лечения стрессового недержания мочи [24]. Однако фенотип большинства подобных клеток на настоящий момент не охарактеризован и линии клеток не имеют соответствующих паспортов, что позволяет применять их только для научных целей. На базе Института цитологии РАН были получены несколько клеточных продуктов, в том числе «Эквивалент дермальный» для лечения ожогов. Для соответствия стандартам GMP при производстве этих клеточных продуктов на базе института сообщается о создании криобанка охарактеризованных клеток кожи человека [25].

В России отсутствует контроль за деятельностью БК со стороны государства. На сегодняшний день лишь разработаны требования к их созданию, которые отражены в следующих документах:

- Приказ Минпромторга № 916 («Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств» от 14 июня 2013 г.). Утверждает правила создания БК, используемых для производства разных групп лекарственных средств, в том числе лекарственных препаратов терапии соматическими клетками, генной терапии и тканевой инженерии³¹;

- ГОСТ Р52249-2009 («Правила производства и контроля качества ЛС»)³²;

- Приказ Минздрава № 325 («О развитии клеточных технологий в Российской Федерации» от 25 июля 2003 г.), который утверждает Положение о Банке СК пуповинной/плацентарной крови человека. Банк СК существует как отдельное подразделение организации с множеством задач (в данном документе требования к помещениям не определены)³³;

- СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность», в которых отражены требования, предъявляемые к помещениям, в которых организованы криохранилища³⁴.

С 2016 г. обращение препаратов на основе клеток в России регулирует Федеральный закон № 180 «О биомедицинских клеточных продуктах» от 23 июня 2016 г. (далее 180-ФЗ). В нем приводится определение клеточной линии, входящей в состав БМКП, приготовление клеточной линии (статья 4) и указывается необходимость разработки правил их хранения (статья 27). На работы с ЭСК имеются законодательные ограничения (статья 3), запрещающие использование в медицинских целях клеточного

материала, полученного путем прерывания процессов развития эмбриона или плода человека или нарушения такого процесса³⁵.

Кроме того, следует отметить, что с закреплением юридической нормы о возможности разрабатывать, производить и использовать в России медицинские препараты, основанные на жизнеспособных клетках человека, принятием 180-ФЗ и нормативно-правовых актов, призванных обеспечить его действие, были разработаны «Требования к организации и деятельности биобанков и правил хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов, биомедицинских клеточных продуктов», утвержденные приказом № 842н Минздрава России от 20 октября 2017 г.³⁶ Данный приказ Минздрава России является первым нормативно-правовым актом, касающимся непосредственно клеточных линий (а не ПК или КМ), содержащим законодательные нормы деятельности биобанков по хранению клеточных линий и биомедицинских клеточных продуктов, обязательные к исполнению, и определяющим требования к персоналу, помещениям, оборудованию и документации для хранения биологических объектов и БМКП, а также требования к системе обеспечения качества.

В России до принятия 180-ФЗ государственному регулированию подвергались только банки ПК и КМ. Банкирование клеточных линий преимущественно осуществлялось на базе научно-исследовательских организаций для их использования в научных целях. На сегодняшний день тенденции создания биобанков в Российской Федерации, объектами хранения которых будут являться непосредственно клеточные линии человека, будут связаны с производством БМКП.

Заключение

В результате исследования мировой практики хранения клеточных линий человека, предназначенных для применения в клинических целях, были выявлены трудности во взаимодействии разработчиков и производителей препаратов, клиник, а также регуляторных органов из-за отсутствия единого подхода к созданию и деятельности БК и реестров в разных странах. Кроме того, отсутствие единой базы данных по всем существующим в мире линиям клеток осложняет поиск разработчиками и клиниками линий клеток или донорского материала, обладающих определенными характеристиками.

Следует ожидать, что с развитием и дальнейшим внедрением в клиническую практику препаратов для клеточной терапии в мире и в Российской Федерации количество биобанков и объемы хранящихся в них материалов, в том числе клеточных линий, а также число реестровых систем будет только увеличиваться. На настоящий момент отмечается тенденция к образованию крупномасштабных банков, часто специализирующихся на определенных типах клеток, а также созданию реестров, дающих полную информацию о линиях клеток с данными научно-прикладного характера о них.

³⁰ Официальный сайт ФМБЦ имени А.И. Бурназяна ФМБА России. <http://www.fmbafmbc.ru>

³¹ Приказ Минпромторга России № 916 («Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств» от 14 июня 2013 г.).

³² ГОСТ Р52249-2009 («Правила производства и контроля качества лекарственных средств»). http://2007.fcpir.ru/docs/ZFT/drug_quality_rules.pdf

³³ Приказ Минздрава России № 325 («О развитии клеточных технологий в Российской Федерации» от 25.07.2003 г.). http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_43679/

³⁴ СанПиН 2.1.3.2630 -10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность». <http://docs.cntd.ru/document/902217205>

³⁵ Федеральный закон от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». <http://kremlin.ru/acts/bank/40894>

³⁶ Приказ Минздрава России от 20.10.2017 № 842н «Об утверждении требований к организации и деятельности биобанков и правил хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов, биомедицинских клеточных продуктов» (зарегистрировано в Минюсте России 28.03.2018 № 50555). http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_294503/

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590045-2).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590045-2).

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

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

Литература / References

1. Abbasalizadeh S, Pakzad M, Cabral JMS, Baharvand H. Allogenic cell therapy manufacturing: process development technologies and facility design options. *Expert Opin Biol Ther.* 2017;17(10):1201–19. <http://doi.org/10.1080/14712598.2017.1354982>
2. Мельникова ЕВ, Меркулова ОВ, Чапленко АА, Меркулов ВА. Дизайн доклинических исследований биомедицинских клеточных продуктов: особенности, ключевые принципы и требования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2017;17(3):133–44. [Melnikova EV, Merkulova OV, Chaplenko AA, Merkulov VA. Design of pre-clinical studies of biomedical cell products: characteristics, key principles and requirements. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2017;17(3):133–44 (In Russ.)]
3. Harris DT. Stem cell banking for regenerative and personalized medicine. *Biomedicines.* 2014;2(1):50–79. <http://doi.org/10.3390/biomedicines2010050>
4. Isasi RM, Knoppers BM. Governing stem cell banks and registries: emerging issues. *Stem Cell Res.* 2009;3(2–3):96–105. <http://doi.org/10.1016/j.scr.2009.05.003>
5. Armitage JO. Bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1994;330(12):827–38. <http://doi.org/10.1056/NEJM199403243301206>
6. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;257(11):491–6. <http://doi.org/10.1056/NEJM195709122571102>
7. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006;354(17):1813–26. <http://doi.org/10.1056/NEJMra052638>
8. Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, et al. Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86(10):3828–32.
9. Кобзева ИВ, Астрелина ТА, Яковлева МВ, Подколзина ЭА, Карпова ЕЭ, Лебедева ЛЛ и др. Системный подход к обеспечению качества гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови для клинического применения. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2011;6(1):55–8. [Kobzeva IV, Astrelina TA, Yakovleva MV, Podkolzina EA, Karpova EE, Lebedeva LL, et al. A systemic approach to quality assurance of umbilical cord blood hematopoietic stem cells designed for clinical use. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cellular Transplantation and Tissue Engineering.* 2011;6(1):55–8 (In Russ.)]
10. Berz D, McCormack EM, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJ. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. *Am J Hematol.* 2007;82(6):463–72. <http://doi.org/10.1002/ajh.20707>
11. Solves P, Mirabet V, Perales A, Carbonell-Uberos F, Roig R. Banking strategies for improving the hematopoietic stem cell content of umbilical cord blood units for transplantation. *Cerr Stem Cell Res Ther.* 2008;3(2):79–84. <http://doi.org/10.2174/157488808784223096>
12. Исаев АА, Квашнина НВ, Приходько АВ. Банки пуповинной крови — деятельность, ее регулирование, перспективы. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2006;3(1):88–98. [Isaev AA, Kvashnina NV, Prikhod'ko AV. Cord blood banks: activity, its regulation, prospects. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cellular Transplantation and Tissue Engineering.* 2006;3(1):88–98 (In Russ.)]
13. Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16(1):126–32. <http://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.11.001>
14. Broxmeyer HE. Umbilical cord transplantation: epilogue. *Semin Hematol.* 2010;47(1):97–103. <http://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2009.10.002>
15. Thirumala S, Scott Goebel WS, Woods EJ. Clinical grade adult stem cell banking. *Organogenesis.* 2009;5(3):143–54. <http://doi.org/10.4161/org.5.3.9811>
16. Stacey GN, Connon CJ, Coopman K, Dickson AJ, Fuller B, Hunt CJ, et al. Preservation and stability of cell therapy products: recommendations from an expert workshop. *Regen Med.* 2017;12(5):553–64. <http://doi.org/10.2217/rme-2017-0073>
17. Акопян АС, Белоусов ДЮ, Рысулы МР, Куликов АВ. Некоторые актуальные проблемы клинических исследований стволовых клеток. *Качественная клиническая практика.* 2010;(1):22–8. [Akopyan AS, Belousov DYU, Rysuly MR, Kulikov AV. Nekotorye aktual'nye problemy klinicheskikh issledovaniy stvolovykh kletok. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika.* 2010;(1):22–8 (In Russ.)]
18. Feigal EG, Tsokas K, Viswanathan S, Zhang J, Priest C, Pearce J, Mount N. Proceedings: international regulatory considerations on development pathways for cell therapies. *Stem Cells Transl Med.* 2014;3(8):879–87. <http://doi.org/10.5966/sctm.2014-0122>
19. Исаев АА, Мелихова ВС. Коммерческие аспекты выделения, хранения и применения стволовых клеток пуповинной крови: мировой опыт. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 2008;3(4):66–70. [Isaev AA, Melikhova VS. Commercial aspects of isolation, storage and use of cord blood stem cells: the world experience. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cellular Transplantation and Tissue Engineering.* 2008;3(4):66–70 (In Russ.)]
20. Woods EJ, Pollok KE, Byers MA, Perry BC, Purttman J, Heimfeld S, et al. Cord blood stem cell cryopreservation. *Transfus Med Hemother.* 2007;34:276–85. <http://doi.org/10.1159/000104183>
21. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 2007;100(9):1249–60. <http://doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09>
22. Unger C, Skottman H, Blomberg P, Dilber MS, Hovatta O. Good manufacturing practice and clinical-grade human embryonic stem cell lines. *Hum Mol Genet.* 2008;17(R1):48–53. <http://doi.org/10.1093/hmg/ddn079>
23. Reuther T, Kettmann C, Scheer M, Kochel M, Iida S, Kubler AC. Cryopreservation of osteoblast-like cells: viability and differentiation with replacement of fetal bovine serum in vitro. *Cells Tissues Organs.* 2006;183(1):32–40. <http://doi.org/10.1159/000094904>
24. Макаров АВ, Арутюнян ИВ, Аполихина ИА, Тетерина ТА, Саидова АС, Адамян ЛВ. Тканеинженерные конструкции для лечения стрессового недержания мочи. В кн.: *Материалы II Национального конгресса по регенеративной медицине.* М.; 2015. С. 109–10. [Makarov AV, Arutyunyan IV, Apolikhina IA, Teterina TA, Saidova AS, Adamyan LV. Tissue engineering designs for the treatment of stress urinary incontinence. In: *Materials of the II National Congress on Regenerative Medicine.* Moscow; 2015. P. 109–10 (In Russ.)]

25. Блинова МИ, Никольский НН, Михайлова НА. 25-летний опыт применения дермального эквивалента: итоги и перспективы. В кн.: *Материалы II Национального конгресса по регенеративной медицине*. М.; 2015. С. 33–4.

[Blinova MI, Nikol'skiy NN, Mikhailova NA. 25 years experience in the use of dermal equivalent: results and prospects. In: *Materials of the II National Congress on Regenerative Medicine*. Moscow; 2015. P. 33–4 (In Russ.)]

Об авторах

Рачинская Ольга Анатольевна, канд. биол. наук, эксперт 1 категории лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8377-9205>

Чапленко Александр Андреевич, эксперт 2 категории лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1176-4658>

Мельникова Екатерина Валерьевна, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Семенова Ирина Семеновна, канд. биол. наук, эксперт 1 категории лаборатории биомедицинских клеточных продуктов Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9026-0508>

Олефир Юрий Витальевич, д-р мед. наук, генеральный директор ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7652-4642>

Поступила 27.08.2018
После доработки 30.10.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Olga A. Rachinskaya, Candidate of Biological Sciences, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Biomedical Cell Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8377-9205>

Aleksandr A. Chaplenko, 2nd Professional Category Expert of the Laboratory of Biomedical Cell Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1176-4658>

Ekaterina V. Melnikova, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Biomedical Cell Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Irina S. Semenova, Candidate of Biological Sciences, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Biomedical Cell Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9026-0508>

Yuri V. Olefir, Doctor of Medical Sciences, Director General of Medicinal Products' Evaluation of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7652-4642>

Received 27 August 2018
Revised 30 October 2018
Accepted 15 November 2018

Ретроспективный анализ заболеваемости вирусным гепатитом В населения Российской Федерации с 2013 по 2017 г. в аспекте вакцинопрофилактики

Л. М. Хантимирова*, Т. Ю. Козлова, Е. Л. Постнова, В. А. Шевцов, А. В. Рукавишников

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

Представлены результаты ретроспективного анализа заболеваемости вирусным гепатитом В населения Российской Федерации с учетом применения вакцин Национального календаря профилактических прививок и Календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям за период с 2013 по 2017 г. На основании рассмотренных данных отмечена тенденция к снижению заболеваемости острой и хронической формами гепатита В на территории Российской Федерации за указанный период. Снижение показателей заболеваемости вирусным гепатитом В достигнуто благодаря увеличению охвата вакцинацией как детского, так и взрослого населения. Представлен обзор зарегистрированных и разрешенных к применению в России рекомбинантных моновалентных и комбинированных препаратов для профилактики вирусного гепатита В. Представлены рекомендации ВОЗ в отношении вакцинопрофилактики вирусного гепатита В, в частности, особое внимание уделяется вакцинации лиц, входящих в группы риска. Рассмотрены перспективные направления совершенствования иммунобиологических препаратов для профилактики гепатита В, включающие новые технологии получения вакцины, разработку и внедрение новых адъювантов или адъювантных систем, а также разработку терапевтических вакцин.

Ключевые слова: вирусный гепатит В; заболеваемость; вакцинопрофилактика; вакцины; адъювант; эффективность; безопасность вакцины

Для цитирования: Хантимирова ЛМ, Козлова ТЮ, Постнова ЕЛ, Шевцов ВА, Рукавишников АВ. Ретроспективный анализ заболеваемости вирусным гепатитом В населения Российской Федерации с 2013 по 2017 г. в аспекте вакцинопрофилактики. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(4):225–235. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-225-235>

***Контактное лицо:** Хантимирова Лейсан Маратовна; KhanTimirova@expmed.ru

Retrospective Analysis of Viral Hepatitis B Incidence in Russia from 2013 to 2017 in the Context of Preventive Vaccination

L. M. Khantimirova*, T. Yu. Kozlova, E. L. Postnova, V. A. Shevtsov, A. V. Rukavishnikov

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

The article presents the results of a retrospective analysis of viral hepatitis B incidence in the Russian Federation from 2013 to 2017, taking into account the use of vaccines included into the National Immunisation Schedule and the Immunisation Programme in Case of Epidemic Outbreaks. The analysis of the data revealed a trend towards a reduction in the incidence of acute and chronic forms of hepatitis B in the territory of the Russian Federation during the past five years. The reduction of viral hepatitis B incidence was achieved thanks to a higher vaccination coverage of both children and adults. The article presents an overview of monovalent and combination recombinant hepatitis B vaccines licensed in the Russian Federation. It describes the WHO position on preventive vaccination against viral hepatitis B, and pays special attention to vaccination of people at risk. The article considers promising areas for improving immunobiological products for hepatitis B prevention, including new technologies used in vaccine production, development and introduction of new adjuvants or adjuvants systems, and development of therapeutic vaccines.

Key words: viral hepatitis B; incidence; vaccine; preventive vaccination; adjuvant; efficacy; safety

For citation: Khantimirova LM, Kozlova TYu, Postnova EL, Shevtsov VA, Rukavishnikov AV. Retrospective analysis of viral hepatitis B incidence in Russia from 2013 to 2017 in the context of preventive vaccination. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2018;18(4):225–235. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-225-235>

***Corresponding author:** Leysan M. Khantimirova; KhanTimirova@expmed.ru

Гепатит В — инфекционное заболевание, вызываемое вирусом гепатита В (ВГВ), который поражает печень, что может приводить к хроническим заболеваниям, прогрессирующим до цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы человека. Гепатит В представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения. ВГВ распространен по всему миру. По данным ВОЗ, в 2015 году во всем мире носителями ВГВ являлись 257 млн человек, а смертность в результате инфекции ВГВ составила 887 тыс. человек, в том числе по причинам гепатоцеллюлярной карциномы — 337 тыс., цирроза печени — 462 тыс., острой формы гепатита В (ОГВ) — 87 тыс. человек¹.

Следует отметить, что гепатит В может протекать наряду с сопутствующими инфекциями, такими как ВИЧ, гепатит С, гепатит D. По данным ВОЗ, из 36 млн ВИЧ-инфицированных 2,7 млн коинфицированы ВГВ². 10–15 % инфицированных хроническим гепатитом В (ХГВ) коинфицированы вирусом гепатита С [1], 5 % — вирусом гепатита D².

Вирус гепатита В — ДНК-содержащий вирус, относится к семейству *Hepadnaviridae*, роду *Orthohepadnavirus*. На основе различий между нуклеотидными последовательностями ВГВ подразделяют на 10 генотипов, обозначенных латинскими буквами от А до J. Генетическая вариабельность составляет 8 %. Клиническая картина заболевания зависит от генотипических особенностей ВГВ [2, 3]. В Российской Федерации развитие эпидемического процесса гепатита В обусловлено циркуляцией вируса гепатита В генотипов D и А (92 и 8 % лиц соответственно)³.

ВГВ классифицируют также по антигенным свойствам поверхностного антигена вируса гепатита В — HBsAg. Различия обусловлены заменами в аминокислотных остатках. В литературе описано 10 субтипов HBsAg, которые имеют общую антигенную детерминанту *a*: ауw1, ауw2, ауw3, ауw4, ауg, адw2, адw4, адr, адrq+, адrq-. Следует отметить, что клинические проявления инфекции вне зависимости от субтипа HBsAg не отличаются. Наличие общей детерминанты *a* определяет перекрестную защиту против всех подтипов вируса [4]. Однако данные последних лет свидетельствуют о специфичности иммунного ответа у взрослых к различным подтипам HBsAg [5].

ВГВ содержит 3 антигена: HBsAg (поверхностный антиген), HBeAg (коровый (core) антиген) и HBeAg (внутренний антиген). Основными диагностическими маркерами являются HBsAg, анти-HBs антитела, IgM к HBsAg, IgG к HBsAg, HBeAg, анти-HBe⁴. Наличие HBsAg в крови свидетельствует об инфицировании человека ВГВ. HBsAg обнаруживается в сыворотке крови во время острой или хронической инфекции. В отличие от ОГВ хроническая инфекция характеризуется длительным присутствием HBsAg в сыворотке крови в течение не менее 6 месяцев (при наличии или отсутствии сопутствующего HBeAg). В ответ на инфекцию вырабатываются антитела против HBsAg (анти-HBs антитела). В случае разрешения острой инфекции анти-HBs антитела заменяют HBsAg. Также в период острой инфекции в сыворотке крови в высоком титре присутствуют антитела IgM к HBsAg, которые не обнаруживаются через 6 месяцев. IgG к HBsAg определяются в течение всей жизни после перенесенного заболевания. Наличие HBeAg свидетельствует о высокой

концентрации ВГВ в крови инфицированного человека. HBeAg определяется в сыворотке крови при ОГВ и ХГВ.

ОГВ при перинатальной передаче встречается в 1 % случаев, при инфицировании в детском возрасте от 1 года до 5 лет — в 10 %, при инфицировании в более позднем возрасте (старше 5 лет) — в 30 % случаев⁵.

Развитие ОГВ в ХГВ зависит, как правило, от того, в каком возрасте происходит инфицирование. В случае инфицирования ВГВ детей в течение первого года жизни ХГВ развивается у 80–90 %, детей до 6 лет — у 30–50 %. В случае инфицирования ВГВ взрослых риску развития ХГВ подвержены менее чем 5 % инфицированных, развития цирроза и рака печени — 20–30 % инфицированных ХГВ [6].

ХГВ является причиной смертности от цирроза печени, печеночной недостаточности и гепатоцеллюлярной карциномы [7]. По данным Центра по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), приблизительно 25 % больных ХГВ преждевременно умирают от цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы⁶.

При первичной инфекции ВГВ симптомы заболевания печени могут быть слабо выражены или вообще отсутствовать. Люди могут не знать, что они инфицированы ВГВ, но при этом они являются носителями инфекции. Хронический персистентный гепатит В обычно рассматривают как непрогрессирующий, тогда как хронический активный гепатит — более тяжелое заболевание, часто прогрессирующее до цирроза [8]. В отличие от носителей, больным ХГВ требуется противовирусная терапия. Носительство ВГВ — наличие HBsAg в организме человека более 6 месяцев при отсутствии признаков воспалительно-некротических изменений в печени. Механизм HBsAg носительства обусловлен интеграцией ДНК вируса гепатита В в геном клеток, который продуцирует вирусные белки, при этом клинические, морфологические и биохимические признаки гепатита В отсутствуют. Для значительной части носителей HBsAg характерно то, что интегрирован не весь геном, а только ген, ответственный за синтез HBsAg. Причины, которые могут приводить к формированию HBsAg носительства, до конца не установлены. От 85 до 100 % детей, рожденных от HBeAg- и HBsAg-положительных матерей, становятся носителями HBsAg. Это обусловлено иммунотолерантностью к HBeAg, который может проникать через плацентарный барьер. Носительство HBsAg развивается у 10–15 % детей и подростков и 1–10 % взрослых.

ВГВ передается через инфицированную кровь и другие биологические жидкости организма (слюну, семенную жидкость и влагалищные выделения)⁴. Механизм передачи инфекции — парентеральный. Инфекция может передаваться как естественными (перинатальным, половым, бытовым (через контаминированные вирусом предметы гигиены)), так и искусственными (при проведении медицинских лечебно-диагностических парентеральных манипуляций, немедических инвазивных процедур) путями. В регионах с высокой эндемичностью ВГВ передается в основном перинатальным путем [9].

Распространенность (частота заражения) ВГВ и пути передачи инфекции различаются в разных частях мира. При-

¹ Global Health Estimates 2015: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000–2015. WHO, Geneva; 2016. http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/GHE2015_Deaths_Global_2000_2015.xls

² Global Hepatitis Report, WHO, Geneva; 2017. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf?sequence=1>

³ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. 2017. <http://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/0b3/gosudarstvennyy-doklad-2016.pdf>

⁴ Hepatitis B. WHO, 2018. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>

⁵ Hepatitis B vaccines: WHO position paper — July 2017. Wkly Epidemiol Rec. 2017;27(92):369–92. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255841/WER9227.pdf?sequence=1>

⁶ Chapter 10. Hepatitis B. In: Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Hamborsky J, Kroger A, Wolfe S, eds. 13th ed. Washington: Public Health Foundation; 2015. <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/hepb.html>

мерно 45 % мирового населения проживает в высокоэндемичных регионах (более 8 % населения является HBsAg-положительным), 43 % — в среднеэндемичных регионах (от 2 до 7 % населения является HBsAg-положительным) и 12 % — в низкоэндемичных регионах (менее 2 % населения является HBsAg-положительным)⁷.

Наиболее высокая распространенность ХГВ отмечается в странах Африки, где инфицированы 6,1 % взрослого населения. Среди населения Западной Европы и Северной Америки заболеваемость хроническим гепатитом В составляет менее 1 %².

Цель работы — оценка состояния проблемы заболеваемости населения Российской Федерации острой и хронической формами гепатита В за период с 2013 по 2017 г. с учетом проведения профилактических мероприятий, а также обзор медицинских иммунобиологических препаратов для профилактики вирусного гепатита В.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести ретроспективный сравнительный анализ динамики и тенденции заболеваемости вирусным гепатитом В населения России в период с 2013 по 2017 г. (по данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)).

2. Рассмотреть аспекты вакцинопрофилактики гепатита В в Российской Федерации в рамках Национального календаря профилактических прививок и Календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям, а также стратегии ВОЗ по вакцинации против гепатита В.

3. Представить перечень вакцин для профилактики вирусного гепатита В, зарегистрированных на территории Российской Федерации (по данным Государственного реестра лекарственных средств).

4. Рассмотреть перспективные направления совершенствования иммунобиологических препаратов для профилактики гепатита В в мире.

Заболеваемость вирусным гепатитом В в Российской Федерации в период с 2013 по 2017 г.

В настоящее время ВГВ относится к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики. Безопасные и эффективные вакцины для профилактики гепатита В стали доступны для массового применения с 1981 г., но в течение следующих 10 лет их применяли для вакцинации лиц из групп повышенного риска инфицирования ВГВ. Эта стратегия вакцинации не внесла существенного вклада в снижение распространения инфекции. В 1992 г. ВОЗ рекомендовала вакцинацию новорожденных и детей в возрасте до 1 года, дополнительно вакцинируя ранее невакцинированных подростков⁴.

В Российской Федерации вакцинопрофилактика гепатита В внедрялась поэтапно.

В 1990-е гг. в России отмечалось значительное повышение заболеваемости и на 100 тыс. населения этот показатель составлял: 1993 г. — 22,4; 1994 г. — 26,8; 1995 г. — 35,4; 1996 г. — 40,0 [10]. В этот период вакцинация проводилась только лицам, относящимся к группам высокого риска (детям, родившимся от матерей, положительных на HBsAg, пациентам отделений гемодиализа, медицинским работникам). Уровень охвата иммунизацией населения был низким и не оказал влияния на интенсивность эпидемического процесса. Страте-

гия вакцинопрофилактики требовала пересмотра, и в 1997 г. в Российской Федерации в Национальный календарь профилактических прививок была включена вакцинация новорожденных детей против гепатита В.

Вакцинация подростков в возрасте 13 лет против гепатита В была включена в Национальную программу иммунизации в Российской Федерации в 2001 году. В этот период были вакцинированы 96,5 % детей, а взрослых — 10–40 %. В период с 2000 по 2006 г. заболеваемость детей ОГВ снизилась в 15,3 раза, уровень носительства HBsAg — в 8 раз, заболеваемость ХГВ — в 2,7 раза. В то же время заболеваемость ОГВ населения в целом снизилась в 7 раз, а заболеваемость ХГВ оставалась на прежнем уровне [11, 12]. Массовая вакцинация населения России началась в 2006 г. в рамках Национального проекта в сфере здравоохранения «Здоровье», один из разделов которого предусматривал дополнительную вакцинацию против гепатита В взрослого населения от 18 до 55 лет. По данным Роспотребнадзора, к 2010 г. в целом по стране были вакцинированы 45 млн взрослых в возрасте от 18 до 59 лет (54 % от численности данной возрастной группы)⁸.

В 2008 г., через 10 лет после начала внедрения широкомасштабной вакцинации против гепатита В в России, показатель заболеваемости ОГВ составлял 4,0 на 100 тыс. населения и к 2014 г. он снизился до 1,3 на 100 тыс. населения. При этом заболеваемость ХГВ оставалась на высоком уровне, показатель на 100 тыс. населения в 2008 и 2014 гг. составлял 14,2 и 11,3 соответственно³. Это свидетельствует о существовании постоянного и существенного резервуара инфекции.

В настоящее время в Российской Федерации заболеваемость ОГВ благодаря широкому комплексу профилактических и противоэпидемических мероприятий имеет тенденцию к снижению. Согласно данным Роспотребнадзора, за последние годы, с 2013 по 2017 г., показатель заболеваемости ОГВ снизился с 1,33 (2013 г.) до 0,86 (2017 г.) на 100 тыс. населения, регистрируются единичные случаи ОГВ среди детей до 17 лет (0,08 на 100 тыс. детей). Данные представлены в таблице 1. По регионам наиболее высокий показатель заболеваемости ОГВ в 2016 г. был зарегистрирован в г. Севастополе (6,13 на 100 тыс. населения)³.

В настоящее время заболеваемость ХГВ остается актуальной проблемой здравоохранения в России. Несмотря на высокие показатели заболеваемости ХГВ, за период с 2013 по 2017 г. зарегистрировано его медленное снижение. Так, в 2017 г. заболеваемость ХГВ уменьшилась на 17,9 % по сравнению с 2013 г. (табл. 1). При этом следует отметить, что показатели резко отличаются по субъектам Российской Федерации (от 4,5 до 147,6 на 100 тыс. населения). Например, в 2016 г., по данным Роспотребнадзора³, наиболее высокий уровень заболеваемости ХГВ (147,6 на 100 тыс. населения) был зафиксирован в Санкт-Петербурге и в 1,7 раза ниже (85,5 на 100 тыс. населения) — в Москве. Возросла доля больных хронической формой гепатита В: если в 2002 г. отношение заболеваемости ОГВ к ХГВ составляло 1:2, то в 2016 г. — 1:6. Установлено увеличение доли лиц с антителами к HBsAg-антигену до 33,1 %³. Эти данные свидетельствуют о высокой интенсивности скрыто протекающего эпидемического процесса.

Тенденция снижения заболеваемости ОГВ, стабилизация заболеваемости ХГВ и снижение заболеваемости гепатоцеллюлярной карциномой за последние годы в Российской Фе-

⁷ Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. WHO, 2015. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154590/9789241549059_eng.pdf

⁸ Протокол селекторного совещания у руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 13 от 20.07.2010. «О ходе иммунизации населения в рамках национального календаря профилактических прививок». <http://www.40.rospotrebnadzor.ru/documents/ros/proto/33213/print/>

Таблица 1. Анализ заболеваемости вирусным гепатитом В населения Российской Федерации за период с 2013 по 2017 г.
Table 1. Incidence of acute and chronic hepatitis B infection in Russia from 2013 to 2017 (per 100000 population)

Заболевание	Заболеваемость гепатитом В, количество случаев на 100 тыс. населения, в год				
	2013	2014	2015	2016	2017
Острый гепатит В	1,33	1,32	1,12	0,94	0,86
Острый гепатит В у детей до 17 лет	0,08	0,10	0,08	0,08	0,04
Хронический гепатит В	11,69	11,1	10,8	10,1	9,6
Носительство вируса гепатита В	16,2	15,86	13,87	11,69	10,13

^{3,9} По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)

Таблица 2. Охват вакцинацией против гепатита В населения Российской Федерации за период с 2013 по 2017 г.
Table 2. Hepatitis B vaccination coverage in Russia from 2013 to 2017

Возрастные группы	Охват вакцинацией против гепатита В по годам				
	2013	2014	2015	2016	2017
Всего вакцинировано, млн человек	4,2	5,1	3,3	3,87	3,27
Из них дети, млн человек	1,75	1,8	1,8	1,8	1,77
Охват своевременной вакцинацией против гепатита В детей по достижении 12 месяцев, %	97,3	96,6	97,0	96,9	97,15
Охват вакцинацией лиц в возрасте 18–35 лет, %	90,2	92,0	93,5	94,4	95,31
Охват вакцинацией лиц в возрасте 36–59 лет, %	65,8	71,2	74,8	80,0	83,56

^{3,9} По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)

дерации были достигнуты благодаря увеличению охвата прививками населения против гепатита В. За период 2013–2017 гг. своевременный охват вакцинацией против гепатита В детей по достижении 12 месяцев продолжает сохраняться на уровне 97 % (табл. 2). Увеличивается охват иммунизацией взрослого населения. Так, в период с 2013 по 2017 г. охват вакцинацией у лиц в возрасте 18–35 лет увеличился с 90,2 до 95,31 %, в возрасте 36–59 лет — с 65,8 до 83,56 %^{3,9}.

Актуальной остается проблема носительства ВГВ. Показатель заболеваемости представлен в таблице 1. В 2017 г. зарегистрировано 14,9 тыс. впервые выявленных случаев носительства ВГВ. Показатель заболеваемости за период с 2013 по 2017 г. снизился с 16,2 до 10,13 на 100 тыс. населения.

В рамках глобальной стратегии борьбы с вирусным гепатитом В на 2020 и 2030 гг. ВОЗ поставлены цели снизить число HBsAg-положительных детей в возрасте до 5 лет до 1 % к 2020 и до 0,1 % — к 2030 году¹⁰.

Вакцинопрофилактика гепатита В

Иммунопрофилактика ВГВ проводится в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок и Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям¹¹. В рамках Национального календаря профилактических прививок вакцинация против гепатита В проводится по схеме 0–1–6 месяцев. По схеме 0–1–2–12 месяцев проводят вакцинацию у детей, относящихся к группам риска (дети, родившиеся от HBsAg-положительных матерей, больных ви-

русным гепатитом В или перенесших вирусный гепатит В в третьем триместре беременности, не имеющих результатов обследования на маркеры гепатита В, потребляющих наркотические средства или психотропные вещества, из семей, в которых есть носитель HBsAg или больной ОГВ и ХГВ). В рамках Календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцинация проводится контактными лицам из очагов заболевания, не болевшим, не привитым и не имеющим сведений о профилактических прививках против вирусного гепатита В¹¹. Вакцинация показана больным при регулярных переливаниях крови или введении препаратов крови; пациентам отделений гемодиализа; при трансплантации органов; членам семей, в которых есть носитель HBsAg или больной ОГВ и ХГВ, не привитым ранее и не имеющим маркеров гепатита В в крови; лицам, употребляющим инъекционные наркотики; медицинским работникам, которые подвержены риску инфицирования в связи с профессиональной деятельностью.

Согласно позиции ВОЗ, оптимальными считаются трехкратная или четырехкратная схемы вакцинации. Вакцинация первой дозой проводится новорожденным в первые 24 ч моновалентным препаратом, следующие дозы — моновалентными или комбинированными вакцинами (одновременно при иммунизации вакцинами Национального календаря профилактических прививок).

После рекомендуемой первичной трехкратной схемы вакцинации защитные титры анти-HBs антител формируются более чем у 95 % младенцев и детей и более чем у 90 % взрослых [9]. С возрастом иммунный ответ снижается⁵.

⁹ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. 2018. http://www.rosotrebнадзор.ru/upload/iblock/c51/gd_2017_seb.pdf

¹⁰ Global Health Sector Strategy on viral hepatitis 2016–2021, towards ending viral hepatitis. WHO; 2016. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246177/WHO-HIV-2016.06-eng.pdf?sequence=1>

¹¹ Приказ Минздрава России от 21.03.2014 № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

Результаты исследования продолжительности защиты от инфекции лиц, вакцинированных в соответствии с трехкратной схемой иммунизации вакциной, полученной из плазмы крови больных ХГВ, подтвердили эффективность трехкратной схемы вакцинации [13]. В исследовании приняли участие 1578 неинфицированных лиц в возрасте от 6 месяцев до 50 лет. В течение 30 лет не было выявлено случаев острого и хронического гепатита В у вакцинированных лиц. Показано, что, несмотря на уровень титров анти-НВс антител, составляющий менее 10 мМЕ/мл, у лиц, не получивших бустерную вакцинацию, трехкратная схема вакцинации обеспечивала защиту от инфекции.

По этим данным было рассчитано, что приблизительно 90 % (диапазон 74–100 %) вакцинированных остается защищенными, по крайней мере, в течение 30 лет, независимо от наличия или отсутствия выявляемых анти-НВс антител [13].

Результаты метаанализа 22 исследований о необходимости введения бустерных доз вакцины против гепатита В, в которых вакцинированные лица находились под наблюдением 20 лет, привели к заключению, что защита от инфекции сохраняется в течение 20 лет после первичной вакцинации [14]. Согласно позиции ВОЗ, своевременная трехкратная схема вакцинации обеспечивает защиту от ВГВ, по меньшей мере, в течение 20 лет⁵.

По данным ВОЗ¹², к 2015 году 185 стран включили в свои Национальные календари иммунизации вакцину для профилактики ВГВ для применения у младенцев, при этом в 97 странах предусмотрено применение первой дозы сразу после рождения (у новорожденных). В 22 странах вакцина показана новорожденным только в случае рождения от НВсАg-положительных матерей. В четырех странах — только новорожденным, входящим в группы риска. В 2015 г. охват тремя дозами вакцины детей до 12 месяцев в мире достиг 84 %, что позволило снизить заболеваемость ХГВ среди детей до 5 лет с 4,7 до 1,3 %.

Массовая вакцинация способствовала тому, что в Западно-Тихоокеанском регионе ВОЗ (в том числе в Китае), где распространенность гепатита В среди детей составляла более 8 %, к 2014 г. этот показатель снизился до уровня менее 1 %⁴. Несмотря на положительную динамику снижения заболеваемости, ХГВ продолжает оставаться актуальной проблемой, поскольку в целом охват вакцинацией новорожденных детей (в первые 24 ч жизни) во всем мире в 2015 г. составил всего 39 %². Известно, что риск развития ХГВ наиболее высок у детей в течение первого года жизни. Метаанализ эффективности вакцины для профилактики ВГВ показал, что риск инфицирования детей, рожденных от НВсАg-положительных матерей и получивших первую дозу вакцины сразу после рождения, в 3,5 раза ниже по сравнению с младенцами, не получавшими препарат [15].

Эффективность и безопасность вакцин для профилактики гепатита В подтверждены многочисленными исследованиями [5, 16–18]. Результаты метаанализа по заболеваемости вакцинированных лиц свидетельствуют о том, что у лиц, вакцинированных 5–20 лет назад, не выявлены случаи ХГВ, хотя заболеваемость субклинической формой инфекции наблюдалась на уровне 0,7 % [19]. Вакцины для профилактики ВГВ обладают высоким профилем безопасности. После инъекции могут наблюдаться побочные действия: боль в месте введения, миалгия, повышение температуры свыше 37,7 °С. Как правило, побочные реакции слабой и средней степени выраженности являются кратковременными, проходящими в течение 24 ч

с момента вакцинации. Серьезные нежелательные явления (такие как анафилактический шок), наблюдаются редко (приблизительно 1,1 случай на 1 млн доз вакцины)^{13, 14}. Причинно-следственная связь между введением вакцины для профилактики гепатита В и развитием следующих поствакцинальных осложнений: синдрома Гийена—Барре, сахарного диабета, астмы, артрита, аутоиммунных заболеваний и синдрома внезапной смерти детей не выявлена [20–22].

Вакцины для профилактики гепатита В, разрешенные к применению в Российской Федерации

Все зарегистрированные вакцины для профилактики ВГВ представляют собой рекомбинантные вакцины, содержащие НВсАg, экспрессируемый дрожжевыми клетками (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula polymorpha*, *Pichia pastoris*).

НВсАg представлен тремя типами поверхностных белков, которые имеют общий С- и различные N-концы вследствие трансляции с различных сайтов инициации: S-НВсАg, М-НВсАg (pre-S2), L-НВсАg (pre-S1). Антиген S — основной компонент вирусной оболочки, L и М составляют 2 и 5–10 % от общего количества соответственно. Рекомбинантные вакцины содержат SHBs белок. SHBs путем самосборки собирается в сферические НВсАg частицы, которые представляют собой высокоиммуногенную α детерминанту⁵.

Количество НВсАg на дозу, которое необходимо для обеспечения защитной эффективности, будет отличаться в зависимости от показаний к применению. Стандартная доза вакцины для применения у детей содержит 5–10 мкг НВсАg, для взрослых — 10–20 мкг, для лиц с ослабленным иммунитетом и пациентов, находящихся на гемодиализе, рекомендовано четырехкратное введение удвоенных доз (40 мкг)⁵. В таблице 3 представлена информация об иммунологических свойствах вакцин, показаниях к применению и о наличии в составе вакцин консервантов в соответствии с инструкциями по применению медицинских иммунобиологических препаратов для профилактики вирусного гепатита В. Все вакцины против гепатита В, применяемые в Российской Федерации, содержат адъювант — гидроксид алюминия. Вакцины для профилактики гепатита В могут содержать консервант — мертиолят. Согласно Национальному календарю профилактических прививок вакцинация детей первого года жизни и беременных женщин проводится вакцинами, не содержащими консервант. Профилактическая эффективность вакцины для профилактики вирусного гепатита В составляет более 90 % (по данным инструкций по медицинскому применению на вакцины для профилактики ВГВ).

Направления совершенствования иммунобиологических препаратов для профилактики гепатита В

Исследования и разработка новых вакцин для профилактики гепатита В продолжаются в настоящее время. К основным направлениям совершенствования иммунобиологических препаратов для профилактики гепатита В можно отнести:

1. Получение вакцины на основе гликозилированного НВсАg

Рекомбинантный НВсАg в зарегистрированных в настоящее время и широко применяемых вакцинах для профилактики ВГВ, получаемых с использованием дрожжевых клеток, состоит исключительно из негликозилированного S полипептида и не содержит preS1/preS2⁵. В настоящее время разра-

¹² Immunization coverage. WHO; 2018. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/immunization-coverage>

¹³ Information sheet observed rate of vaccine reactions hepatitis B vaccine. WHO; 2012. http://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/Hep_B_Vaccine_rates_information_sheet.pdf?ua=1

¹⁴ Global vaccine safety. Hepatitis B. WHO. http://www.who.int/vaccine_safety/committee/topics/hepatitisb/en/

батываются вакцины, которые содержат гликозилированный preS1/preS2/S HBsAg. Например, в Израиле зарегистрирована вакцина Sci-B-Vac (SciGen), полученная с использованием клеточных линий млекопитающих [23]. Эта вакцина предназначена для применения у новорожденных и лиц, у которых после введения трех доз классических рекомбинантных вакцин не вырабатываются антитела на уровне защитного титра анти-HBs антител (≥ 10 мМЕ/мл), а также у пациентов с почечной недостаточностью и пациентов с заболеванием печени, не связанным с ВГВ. Зарегистрирована вакцина, содержащая в качестве антигена preS1, preS2 и S белок HBsAg — HeparGene (PowderJect) [24] и вакцина, содержащая PreS2 и S белок HBsAg — GenHevac-B (Pasteur)¹⁵.

2. Разработка и внедрение новых адъювантов

Одним из актуальных направлений совершенствования иммунобиологических препаратов является разработка и внедрение новых адъювантов. В настоящее время проводятся многочисленные исследования адъювантных свойств различных соединений. В Европе зарегистрирована рекомбинантная дрожжевая вакцина для профилактики гепатита В с адъювантом AS04 (смесь фосфата алюминия с 3-О-дезацетил-4'-монофосфорил липидом А) — Fendrix (ГлаксоСмитКляйн-Бичем)¹⁶. Новая вакцина предназначена для применения у взрослых людей с диагнозом «почечная недостаточность» (включая пациентов, перенесших гемодиализ и получающих гемодиализ), для которых классическая вакцина (с адъювантом гидроксид алюминия) является слабоиммуногенной.

В США зарегистрирована вакцина для профилактики гепатита В — HEPLISAV-B™ (Dynavax Technologies), содержащая в качестве адъюванта ISS 1018 (агонист TLR9) [25]. Вакцина предназначена для применения у взрослых (от 18 лет и старше).

3. Терапевтические вакцины для лечения вирусного гепатита В

Противовирусных препаратов для специфического лечения ОГВ не существует. Для терапии ХГВ в настоящее время рекомендованы: стандартный и пегилированный интерферон-альфа, а также препараты на основе аналогов нуклеозидов/нуклеотидов — тенофовир и энтекавир [26]. Недостатком применения аналогов нуклеозидов является развитие лекарственной устойчивости, необходимость применения этой группы препаратов на протяжении всей жизни, поскольку действие основано на подавлении репликации вируса. При прекращении приема препарата заболевание прогрессирует. К недостаткам применения препаратов интерферона-альфа можно отнести инъекционный способ введения, проявление побочного действия, а также их высокую стоимость [26]. Одним из перспективных направлений разработки специфических средств для лечения ВГВ являются терапевтические вакцины. Иммунотерапевтическое действие таких препаратов должно быть направлено на индукцию не только Т-клеточного иммунного ответа, но и провоспалительных цитокинов, способных контролировать и подавлять репликацию вируса. Одна из таких вакцин под названием ABX203 (HeberNasvac) была зарегистрирована на Кубе и разрешена к применению в 2015 году [27]. Терапевтическая вакцина ABX203 (HeberNasvac), представляющая собой комбинацию

рекомбинантных антигенов HBsAg и HBeAg, вводится одновременно интраназально и подкожно, аналогично стратегии комбинированного парентерального и интраназального способов введения ВИЧ-вакцины. Согласно опубликованным результатам [27], вакцина успешно прошла I, II и III фазы клинических исследований для лечения пациентов с ХГВ.

В качестве терапевтических вакцин также были предложены и прошли клинические исследования следующие виды препаратов:

- профилактические вакцины в комплексе со специфическими противовирусными препаратами. Например, опубликованы результаты клинических исследований препарата на основе вакцины для профилактики гепатита В (с preS2/HBsAg) + IL-7 + энтекавир или тенофовир (NCT01027065)¹⁷;

- ДНК-вакцины на основе плазмидных ДНК, содержащих нуклеотидную последовательность, кодирующую поверхностный антиген ВГВ, или комбинации плазмидных ДНК, содержащих в качестве целевых генов поверхностный антиген, капсидный и полимеразный белки ВГВ и IL-12 + противовирусный препарат (NCT00536627; NCT00513968; NCT01189656)^{18, 19, 20};

- иммунный комплекс HBsAg/анти-HBs с гидроксидом алюминия в качестве адъюванта [28].

К перспективным направлениям относится разработка терапевтических иммунобиологических препаратов на основе антител к PD-L1. В настоящее время моноклональные антитела к лигандам белка PD1 — PD-L1 находятся на этапе клинических исследований в качестве компонентов противоопухолевых препаратов для иммунотерапии широкого спектра опухолей [29].

Заключение

По данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на территории Российской Федерации на протяжении последних пяти лет заболеваемость гепатитом В остается на стабильно низком уровне. Своевременная вакцинация детей по достижении 12 месяцев, увеличение охвата вакцинацией взрослого населения возрастных групп 18–35 и 36–59 лет за период с 2013 по 2017 г. позволили снизить заболеваемость острым гепатитом В, стабилизировать заболеваемость хроническим гепатитом В и снизить заболеваемость гепатоцеллюлярной карциномой. Эффективность вакцинации обеспечивается благодаря применению вакцин у новорожденных в пределах 24 ч с момента рождения. Профилактическая эффективность вакцин для профилактики вирусного гепатита В составляет более 90 % (по данным инструкций по медицинскому применению на вакцины для профилактики ВГВ).

Однако следует отметить, что есть группы пациентов, у которых после введения трех доз классических рекомбинантных вакцин не вырабатываются антитела на уровне защитного титра анти-HBs антител (≥ 10 мМЕ/мл), и для таких пациентов разрабатываются вакцины нового поколения.

В мире на данный момент актуальными направлениями совершенствования иммунобиологических препаратов для профилактики гепатита В являются: получение вакцин на основе гликозилированного preS1/preS2/S HBsAg, разработка и вне-

¹⁵ <https://www.mesvaccines.net/web/vaccines/48-genhevac-b-pasteur>

¹⁶ Fendrix: EPAR — Product Information. https://www.ema.europa.eu/en/search/search?search_api_views_fulltext=fendrix

¹⁷ Dose Escalation of Interleukin-1 (IL-7) added on antiviral treatment and vaccination in HBeAg-negative chronic hepatitis B virus (HBV) infected patients (Convert). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01027065>

¹⁸ Efficacy and tolerance of naked DNA vaccine in patients with chronic B hepatitis (VAC-ADN). <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00536627>

¹⁹ Phase I study to investigate the safety and efficacy of HBV DNA vaccine. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00513968>

²⁰ A clinical study on therapeutic double-plasmid hepatitis B virus (HBV) DNA vaccine in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01189656>

дрение новых адъювантов или адъювантных систем с целью обеспечения высокой иммуногенности вакцин для применения у лиц, для которых классическая рекомбинантная вакцина не индуцирует защитный уровень антител (IgG антитела к HBsAg менее 10 мМЕ/мл).

Вопросы терапии вирусного гепатита В также остаются актуальной проблемой здравоохранения. Специфической терапии ОГВ не существует. Для лечения ХГВ ВОЗ рекомендует применение препаратов на основе нуклеотидных аналогов (тенофовир, энтекавир). Однако основным их недостатком является развитие лекарственной устойчивости. В настоящее время одним из перспективных направлений разработки специфических средств для лечения вирусного гепатита В являются терапевтические вакцины. Ряд разработанных препаратов разрешен к применению в зарубежных странах.

В Российской Федерации проводятся исследования по разработке вакцин гепатита В нового поколения, которые содержат в своем составе в качестве активного компонента рекомбинантный поверхностный антиген вируса гепатита В, имеющий мутацию G145R, и могут содержать рекомбинантный HBsAg дикого типа серотипа ауw и/или адw. Проводятся исследования вакцин для терапевтического применения на основе иммуногенных эпитопов preS-области и НВс антигена, обеспечивающие индуцирование анти-preS1, анти-preS2 и анти-НВс антител, что позволит расширить защитный спектр противовирусного гуморального иммунитета по сравнению только с анти-НВс антителами в случае вакцины второго поколения. За счет использования эпитопов, специфичных для preS областей и НВсAg, вакцина может иметь не только профилактическое действие широкого спектра, но и терапевтическое применение.

Таблица 3. Перечень вакцин для профилактики вирусного гепатита В, зарегистрированных на территории Российской Федерации*

Table 3. Hepatitis B vaccines licensed in Russia (according to patient information leaflets for hepatitis B vaccines)

№ п/п	Торговое наименование	Производитель	Иммунологические свойства	Показания к применению	Содержание антигена в вакцине	Наличие в составе вакцины консервантов
Моновалентные вакцины						
1	Регевак® В (Вакцина против гепатита В, рекомбинантная дрожжевая жидкая)	АО «Бионофарм», Россия	Защитный титр антител у 90 % вакцинированных	Профилактика гепатита В у детей в рамках Национального календаря профилактических прививок и лиц из групп повышенного риска инфицирования вирусом гепатита В**. Прививки рекомендуют проводить всем группам населения	Дозы для применения: у детей — 0,5 мл: 10 мкг HBsAg; у взрослых — 1 мл: 20 мкг HBsAg	Тиомерсал от 25 до 50 мкг/мл и без консерванта
2	Вакцина гепатита В рекомбинантная дрожжевая	ЗАО НПК «Комбиотех», Россия	Защитный титр антител более чем у 90 % вакцинированных	Специфическая профилактика вирусного гепатита В, вызванного всеми известными субтипами вируса, у детей, подростков и взрослых. В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок и Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцинация против гепатита В показана всем группам населения, не привитым ранее, лицам из групп повышенного риска инфицирования вирусом гепатита В**	Дозы для применения: у детей — 0,5 мл: 10 мкг HBsAg; у взрослых — 1 мл: 20 мкг HBsAg	Тиомерсал от 25 до 50 мкг/мл и без консерванта
3	Эувакс В (вакцина для профилактики гепатита В рекомбинантная)	Эл Жи Хем, Лтд, Корея	Защитный титр антител более чем у 94,1 % вакцинированных	Специфическая профилактика гепатита В у детей в рамках Национального календаря профилактических прививок и лиц из групп повышенного риска инфицирования вирусом гепатита В**	Дозы для применения: у детей — 0,5 мл: 10 мкг HBsAg; у взрослых — 1 мл: 20 мкг HBsAg	Без консерванта
4	Вакцина гепатита В рекомбинантная (рДНК)	Серум Инститьют оф Индия Лтд, Индия	Формирование защитного титра антител	Специфическая профилактика инфекции, вызываемой вирусом гепатита В, у детей в возрасте от 1 года и взрослых. В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок и Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцинация против гепатита В показана всем группам населения, не привитым ранее, лицам из групп повышенного риска инфицирования вирусом гепатита В**	Дозы для применения: у детей — 0,5 мл: 10 мкг HBsAg; у взрослых — 1 мл: 20 мкг HBsAg	Тиомерсал от 25 до 50 мкг/мл

Продолжение таблицы 3

№ п/п	Торговое наименование	Производитель	Иммунологические свойства	Показания к применению	Содержание антигена в вакцине	Наличие в составе вакцины консервантов
5	Энджерикс® В (Вакцина против гепатита В рекомбинантная)	Глаксо-Смит-Кляйн Байолоджикалз, С.А., Бельгия	Образование защитного титра антител. Профилактическая эффективность у 89–100 % вакцинированных	Специфическая профилактика вирусного гепатита В, вызванного всеми известными субтипами вируса, у детей, подростков и взрослых. В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок и Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцинация против гепатита В показана всем группам населения, не привитым ранее, лицам из групп риска заболевания вирусным гепатитом В*	Дозы для применения: у детей — 0,5 мл: 10 мкг HBsAg; у взрослых — 1 мл: 20 мкг HBsAg	Без консерванта
Комбинированные вакцины						
6	Инфанрикс® Гекса (Вакцина для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша (бесклеточная), полиомиелита (инактивированная), гепатита В комбинированная, адсорбированная в комплексе с вакциной для профилактики инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> тип b конъюгированной, адсорбированная)	Глаксо-Смит-Кляйн Байолоджикалз, С.А., Бельгия	Защитный титр антител после первичной вакцинации не менее чем у 95,7 % вакцинированных; после ревакцинации — не менее чем у 98,4 % вакцинированных	Первичная вакцинация и ревакцинация детей против дифтерии, столбняка, коклюша, гепатита В, полиомиелита и инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> тип b	Доза 0,5 мл: HBsAg — 10 мкг, анатоксин дифтерийный — не менее 30 МЕ, анатоксин столбнячный — не менее 40 МЕ, анатоксин коклюшный — 25 мкг, гемагглютинин филаментозный — 25 мкг, пертактин — 8 мкг, вирус полиомиелита тип 1 инактивированный — 40 ЕД D-антигена, вирус полиомиелита тип 2 инактивированный — 8 ЕД D-антигена, вирус полиомиелита тип 3 инактивированный — 32 ЕД D-антигена	Без консерванта
7	Бубо®-М (Вакцина комбинированная гепатита В и анатоксина дифтерийно-столбнячного с уменьшенным содержанием антигенов адсорбированная жидкая)	ЗАО НПК «Комбиотех», Россия	Образование специфического иммунитета против гепатита В, дифтерии и столбняка	Вакцинация против гепатита В, дифтерии и столбняка у детей старше 6 лет, подростков и взрослых	Доза 0,5 мл: 10 мкг HBsAg, 5 флокулирующих единиц дифтерийного и 5 антикоксинсвязывающих единиц столбнячного анатоксинов	Тиомерсал — 25 мкг/мл
8	Бубо®-Кок	ЗАО НПК «Комбиотех», Россия	Формирование специфического иммунитета против коклюша, столбняка и гепатита В	Вакцинация против коклюша, дифтерии, столбняка и гепатита В детей до 4 лет	Доза 0,5 мл: 15 флокулирующих единиц дифтерийного, 5 единиц связывания столбнячного анатоксинов, 10 млрд коклюшных бактерий, 5 мкг HBsAg	Тиомерсал — 50 мкг/мл

№ п/п	Торговое наименование	Производитель	Иммунологические свойства	Показания к применению	Содержание антигена в вакцине	Наличие в составе вакцины консервантов
9	Вакцина против коклюша, дифтерии, столбняка и гепатита В адсорбированная (Вакцина АКДС-Геп В)	АО «НПО «Микроген», Россия	Введение препарата в соответствии с утвержденной схемой вызывает формирование специфического иммунитета против коклюша, дифтерии, столбняка и гепатита В	Профилактика коклюша, дифтерии, столбняка и гепатита В у детей	Доза 0,5 мл: 5 мкг HBsAg, 15 флюкулирующих единиц дифтерийного анатоксина, 5 единиц связывания столбнячного анатоксина, 10 млрд коклюшных бактерий	Тиомерсал от 35 до 50 мкг/мл и без консерванта

^{*} По данным Инструкций по медицинскому применению на вакцины для профилактики ВГВ²¹.

^{**} Группы повышенного риска инфицирования вирусом гепатита В²²:

- дети и взрослые из семей, в которых есть носитель HBsAg или больной острым вирусным гепатитом В и хроническими вирусными гепатитами, не привившиеся ранее и не имеющие маркеров гепатита В в крови;
- дети домов ребенка, детских домов и интернатов;
- лица, у которых произошел контакт с материалом, инфицированным вирусом гепатита В;
- медицинские работники, имеющие контакт с кровью и/или ее компонентами;
- лица, занятые в производстве иммунобиологических препаратов из донорской и плацентарной крови;
- дети и взрослые, регулярно получающие кровь и ее препараты, больные центров и отделений гемодиализов, пересадки почки, сердечно-сосудистой и легочной хирургии, гематологии и др.;
- дети, родившиеся от матерей-носителей HBsAg, больных вирусным гепатитом В или перенесших вирусный гепатит В в третьем триместре беременности, не имеющих результатов обследования на маркеры гепатита В, употребляющих наркотические средства или психотропные вещества;
- лица, употребляющие инъекционные наркотики;
- студенты медицинских институтов и учащиеся средних медицинских учебных заведений (в первую очередь выпускники);
- контактные лица из очагов заболевания, не болевшие, не привитые и не имеющие сведений о профилактических прививках против вирусного гепатита В.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

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

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

Литература / References

1. Konstantinou D, Deutsch M. The spectrum of HBV/HCV coinfection: epidemiology, clinical characteristics, viral interactions and management. *Ann Gastroenterol.* 2015;28(2):221–8.
2. Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. *World J Gastroenterol.* 2014;20(18):5427–34. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i18.5427>
3. Kramvis A. The clinical implications of hepatitis B virus genotypes and HBeAg in pediatrics. *Rev Med Virol.* 2016;26(4):285–303. <https://doi.org/10.1002/rmv.1885>
4. Озерецковский НА, Шалунова НВ, Петручук ЕМ, Индикова ИН. Вакцинопрофилактика гепатита В. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2015;2(81):87–95. [Ozeretskovsky NA, Shalunova NV, Petrushuk EM, Indikova IN. Vaccinoprophylaxis of hepatitis B. *Epidemiologiya i vaktzinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention.* 2015;2(81):87–95 (In Russ.)]
5. Heijink RA, Bergen PV, Melber K, Janowicz ZA, Osterhaus AD. Hepatitis B surface antigen (HBsAg) derived from yeast cells (*Hansenula polymorpha*) used to establish an influence of antigenic subtype (adw2, adr, ayw3) in measuring the immune response after vaccination. *Vaccine.* 2002;20(17–18):2191–6. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(02\)00145-7](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00145-7)
6. Shimakawa Y, Lemoine M, Bottomley C, Njai HF, Ndow G, Jatta A, et al. Birth order and risk of hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: a case-control study in the Gambia. *Liver Int.* 2015;35(10):2318–26. <https://doi.org/10.1111/liv.12814>
7. McGlynn KA, London WT. The global epidemiology of hepatocellular carcinoma: present and future. *Clin Liver Dis.* 2011;15(2):223–43. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2011.03.006>
8. Peters RL. Viral hepatitis: a pathologic spectrum. *Am J Med Sci.* 1975;270(1):17–31.
9. Van Damme P, Ward J, Shouval D, Wiersma S, Zanetti A. Hepatitis B vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines.* 7th ed. Elsevier Saunders; 2017. P. 342–75.
10. Klushkina VV, Kyuregyan KK, Kozhanova TV, Popova OE, Dubrovina PG, Isaeva OV, et al. Impact of universal hepa-

²¹ Государственный реестр лекарственных средств. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

²² МУ 3.3.1889-04. 3.3. Иммунопрофилактика инфекционных болезней. Порядок проведения профилактических прививок. Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004).

- titis B vaccination on prevalence, infection-associated morbidity and mortality, and circulation of immune escape variants in Russia. *PLoS One*. 2016;11(6):e0157161. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157161>
11. Шахгильдян ИВ, Михайлов МИ, Онищенко ГГ. *Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика)*. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ; 2003. [Shakhgildyan IV, Mikhailov MI, Onishchenko GG. *Parenteralnye virusnye gepatity (epidemiologiya, diagnostika, profilaktika)*. Moscow: GOU VUNMTS MZ RF; 2003 (In Russ.)]
 12. Шульгина НИ, Стасенко ВЛ. Оценка эффективности массовой иммунизации населения против гепатита В в Новосибирской области. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011;100(1):125–8. [Shulgina NI, Stassenko VL. Estimation of efficiency of mass immunization of the population against hepatitis B in Novosibirsk oblast. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk) = Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2011;100(1):125–8 (In Russ.)]
 13. Lin AW, Wong KH. Long-term protection of neonatal hepatitis B vaccination in a 30-year cohort in Hong Kong. *J Hepatol*. 2013;59(6):1363–4. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.08.021>
 14. McMahon BJ, Dentinger CM, Bruden D, Zanis C, Peters H, Hurlburt D, et al. Antibody levels and protection after hepatitis B vaccine: results of a 22-year follow-up study and response to a booster dose. *J Infect Dis*. 2009;200(9):1390–6. <https://doi.org/10.1086/606119>
 15. Lee C, Gong Y, Brok J, Boxall EH, Gluud C. Hepatitis B immunisation for newborn infants of hepatitis B surface antigen-positive mothers. *Cochrane Database of Syst Rev*. 2006;(2):CD004790. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004790.pub2>
 16. Van Den Ende C, Marano C, Van Ahee A, Bunge EM, De Mollerlooze L. The immunogenicity and safety of GSK's recombinant hepatitis B vaccine in adults: a systematic review of 30 years of experience. *Expert Rev Vaccines*. 2017;16(8):811–32. <https://doi.org/10.1080/14760584.2017.1338568>
 17. Акимкин ВГ, Семенов ТА. Эпидемиологическая и иммунологическая эффективность вакцинации медицинских работников против гепатита В. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017;16(4):52–7. [Akimkin VG, Semenenko TA. Epidemiological and immunological efficacy of health workers vaccination against hepatitis B. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2017;16(4):52–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2017-16-4-52-57>
 18. Фельдблюм ИВ, Николаева АМ, Павроз КА, Данилина ТВ, Соснина ОЮ, Вязникова ТВ и др. Безопасность и иммуногенность отечественной комбинированной вакцины против коклюша, дифтерии, столбняка, гепатита В и Hib-инфекции, содержащей бесклеточный коклюшный компонент, при иммунизации взрослых. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016;(1):46–51. [Feldblyum IV, Nikolaeva AM, Pavroz KA, Danilina TV, Sosnina OYu, Vyaznikova TV, et al. Safety and immunogenicity of a national combined vaccine against pertussis, diphtheria, tetanus, hepatitis B and Hib-infection, containing acellular pertussis component, during immunization of adults. *Zhurnal mikrobiologii, ehpidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2016;(1):46–51 (In Russ.)]
 19. Poorolajal J, Mahmoodi M, Majdzadeh R, Nasser-Moghadam S, Haghdoost A, Fotouhi A. Long-term protection provided by hepatitis B vaccine and need for booster dose: a meta-analysis. *Vaccine*. 2010;28(3):623–31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.10.068>
 20. Mikaeloff Y, Caridade G, Assi S, Tardieu M, Suissa S. Hepatitis B vaccine and risk of relapse after a first childhood episode of CNS inflammatory demyelination. *Brain*. 2007;130(4):1105–10. <https://doi.org/10.1093/brain/awl368>
 21. Yu O, Bohlke K, Hanson CA, Delaney K, Rees TG, Zavitkovsky A, et al. Hepatitis B vaccine and risk of autoimmune thyroid disease: a vaccine safety datalink study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2007;16(7):736–45. <https://doi.org/10.1002/pds.1354>
 22. Duclos P. Safety of immunisation and adverse events following vaccination against hepatitis B. *Expert Opin Drug Saf*. 2003;2(3):225–31. <https://doi.org/10.1517/14740338.2.3.225>
 23. Gerlich WH. Prophylactic vaccination against hepatitis B: achievements, challenges and perspectives. *Med Microbiol Immunol*. 2015;204(1):39–55. <https://doi.org/10.1007/s00430-014-0373-y>
 24. Beran J. Safety and immunogenicity of a new hepatitis B vaccine for the protection of patients with renal insufficiency including pre-haemodialysis and haemodialysis patients. *Expert Opin Biol Ther*. 2008;8(2):235–47. <https://doi.org/10.1517/14712598.8.2.235>
 25. Leroux-Roels G. Old and new adjuvants for hepatitis B vaccines. *Med Microbiol Immunol*. 2015;204(1):69–78. <https://doi.org/10.1007/s00430-014-0375-9>
 26. Gish RG, Given BD, Lai CL, Locarnini SA, Lau JY, Lewis DL, Schlupe T. Chronic hepatitis B: virology, natural history, current management and a glimpse at future opportunities. *Antiviral Res*. 2015;(121):47–58. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.06.008>
 27. Лобаина Мато Я, Агилар Рубидо Х, Гильен Нието Х. ABX203, инновационная терапевтическая вакцина для больных хроническим гепатитом В. *Альманах клинической медицины*. 2016;44(6):713–18. [Lobaina Mato Y, Aguilar Rubido J, Guillén Nieto G. ABX203, a novel therapeutic vaccine for chronic hepatitis B patients. *Almanah klinicheskoy mediciny = Almanac of Clinical Medicine*. 2016;44(6):713–18 (In Russ.)] <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-6-713-718>
 28. Michel ML, Deng Q, Mancini-Bourgine M. Therapeutic vaccines and immune-based therapies for the treatment of chronic hepatitis B: perspectives and challenges. *J Hepatol*. 2011;54(6):1286–96. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.12.031>
 29. Fiscaro P, Valdatta C, Massari M, Loggi E, Biasini E, Sacchelli L, et al. Antiviral intrahepatic T-cell responses can be restored by blocking programmed death-1 pathway in chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2010;138(2):682–93. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.052>

Об авторах

Хантимирова Лейсан Маратовна, аналитик Управления экспертизы противовирусных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6269-0201>

Козлова Татьяна Юрьевна, эксперт 1 категории Управления экспертизы противовирусных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0819-2978>

Постнова Евгения Леонидовна, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1798-4910>

Шевцов Владимир Александрович, канд. мед. наук, начальник Управления экспертизы противовирусных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7164-2890>

Рукавишников Андрей Владимирович, канд. биол. наук, заместитель начальника Управления экспертизы противовирусных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4536-2040>

Поступила 11.05.2018
После доработки 09.11.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Leysan M. Khantimirova, Analyst of the Division for Evaluation of Antiviral Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6269-0201>

Tatyana Yu. Kozlova, 1st Professional Category Expert of the Division for Evaluation of Antiviral Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0819-2978>

Evgeniya L. Postnova, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1798-4910>

Vladimir A. Shevtsov, Candidate of Medicinal Sciences, Head of the Division for Evaluation of Antiviral Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-7164-2890>

Andrey V. Rukavishnikov, Candidate of Biological Sciences, Deputy Head of the Division for Evaluation of Antiviral Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4536-2040>

Received 11 May 2018
Revised 9 November 2018
Accepted 15 November 2018

Вакцинопрофилактика полиомиелита на современном этапе

Е. В. Карпова^{1,*}, К. А. Саркисян¹, А. А. Мовсесянц¹, В. А. Меркулов^{1,2}

¹ 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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Полиомиелит — типичный антропоноз, в естественных условиях этой инфекцией заболевает только человек. Единственным специфическим средством борьбы с полиомиелитом является вакцинопрофилактика. Полиомиелитная вакцина обеспечивает развитие длительного гуморального и местного иммунитета. В статье представлена краткая история создания вакцин для профилактики полиомиелита, дана сравнительная характеристика живых и инактивированных вакцин, зарегистрированных и применяемых на территории Российской Федерации, рассмотрены преимущества и недостатки каждой из них. Показано, что все используемые в настоящее время вакцины для профилактики полиомиелита отечественного и зарубежного производства по основным показателям качества соответствуют международным требованиям и, в том числе, рекомендациям ВОЗ. Затронуты вопросы, связанные с применением живой полиомиелитной вакцины, в частности проблема вакциноассоциированного паралитического полиомиелита, а также проблема появления вакцинородственных полиовирусов. Рассмотрены основные подходы современной стратегии ликвидации полиомиелита, рекомендованной ВОЗ. Подведены краткие итоги 30-летнего периода со дня принятия программы глобальной ликвидации полиомиелита. Описан переход от применения вакцины полиомиелитной пероральной живой аттенуированной 1, 2, 3 типов к применению бивакцины (полиомиелитной пероральной живой аттенуированной 1, 3 типов). Рассмотрена необходимость применения полиомиелитных вакцин как инактивированных, так и живых на заключительном этапе ликвидации полиомиелита. Представлен новый Национальный календарь профилактических прививок.

Ключевые слова: полиомиелит; вакцины для профилактики полиомиелита; инактивированная вакцина для профилактики полиомиелита; живая пероральная полиомиелитная вакцина; иммунный ответ на вакцинацию; календарь профилактических прививок

Для цитирования: Карпова ЕВ, Саркисян КА, Мовсесянц АА, Меркулов ВА. Вакцинопрофилактика полиомиелита на современном этапе. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(4):236–242. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-236-242>

Контактное лицо: Карпова Елена Викторовна; karpova@expmed.ru

Preventive Vaccination against Poliomyelitis: Modern View

Е. V. Karpova^{1,*}, K. A. Sarkisyan¹, A. A. Movsesyants¹, V. A. Merkulov^{1,2}

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya Street, Moscow 119991, Russian Federation

Poliomyelitis is a typical anthroponosis, in natural conditions it infects only humans. The only effective strategy for combating the infection is preventive vaccination. The polio vaccine induces long-lasting humoral and local immunity. The article presents a brief history of polio vaccine development, and compares live and inactivated vaccines currently licensed and used in Russia. It also dwells upon the benefits and shortcomings of each of these vaccines. The results of analysis demonstrated that all foreign-made and domestically-produced polio vaccines currently used in Russia meet international requirements in terms of main quality characteristics and comply with the WHO recommendations. The article looks into some issues arising from the use of live polio vaccine, in particular the development of vaccine-associated paralytic polio, and the appearance of vaccine-derived polioviruses. It reviews the main approaches of the current WHO polio eradication initiative, and summarises the outcomes of the 30-year period since the adoption of the Global Polio Eradication Initiative. The article describes the transition from live attenuated oral polio vaccine (types 1, 2 and 3) to bivalent vaccine (live attenuated oral polio vaccine, types 1 and 3). It discusses the necessity of using polio vaccines (both live and inactivated) at the final stage of polio eradication. The article presents the new National Immunisation Schedule.

Key words: poliomyelitis; polio vaccines; inactivated polio vaccine; live oral polio vaccine; immune response to vaccination; immunisation schedule

For citation: Karpova EV, Sarkisyan KA, Movsesyants AA, Merkulov VA. Preventive vaccination against poliomyelitis: modern view. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2018;18(4):236–242. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-236-242>

Corresponding author: Elena V. Karpova; karpova@expmed.ru

История полиомиелита уходит корнями в глубокую древность. Первым графическим свидетельством заболевания является египетский барельеф, на котором изображен больной с атрофией ноги и асимметричным вялым параличом. При археологических раскопках египетских поселений, существовавших за 3700 лет до н.э., были обнаружены скелеты мумий, кости конечностей которых имели трофические изменения и деформации, характерные для полиомиелита [1].

Проблема заболеваемости полиомиелитом сохраняется и по сей день. В мире более 10 млн детей и взрослых страдают вследствие перенесенного полиомиелита [2]. Глобальная задача, поставленная ВОЗ: человечество должно войти в третье тысячелетие без полиомиелита — еще не выполнена, однако всеобщая массовая иммунизация дала ощутимые результаты. В таких эндемичных странах, как Афганистан, Нигерия, Пакистан, в 2012 г. было зарегистрировано 217 паралитических случаев из 223, выявленных в мире. В 2016 г. в Нигерии и Пакистане наблюдалось всего 37 случаев, вызванных диким полиовирусом [3].

Полиомиелит — острое вирусное заболевание с поражением центральной нервной системы, главным образом серого вещества спинного мозга.

Возбудителем заболевания являются полиовирусы трех серологических типов, принадлежащих к роду энтеровирусов. Клиническая классификация полиомиелита включает инвазивную, абортивную, менингеальную формы^{1, 2} [4, 5]. В естественных условиях источником инфекции является человек с бессимптомной или манифестной формой инфекционного процесса или вирусоноситель после перенесенного заболевания. Большинство случаев после инфицирования протекает в виде простого вирусоносительства (95 %). Общие клинические проявления развиваются примерно у 5 % зараженных, а паралитические формы среди заболевших составляют не более 1 % [6, 7]. Инкубационный период при полиомиелите колеблется от 3 до 35 сут, в среднем он составляет 7–14 сут. Наиболее интенсивно вирус выделяется перед развитием паралича и в течение двух недель после появления первых симптомов. Основной механизм передачи вируса полиомиелита — фекально-оральный. В фекалиях вирус появляется через 72 ч и выделяется до 3–6 нед. В носоглоточной слизи полиовирус обнаруживается через 36 ч и сохраняется в течение 7–10 сут. Перенесенная инфекция оставляет стойкий типоспецифический иммунитет к серотипу полиовируса, вызвавшему заболевание [8, 9]. Единственным специфическим средством борьбы с полиомиелитом является вакцинопрофилактика. Полиомиелитная вакцина обеспечивает развитие длительного гуморального и местного иммунитета у 90–95 % привитых [2].

Целью работы является изложение основных исторических этапов создания вакцин (живых и инактивированных) для профилактики полиомиелита, характеристика вакцин, зарегистрированных и применяемых в Российской Федерации, затронуты вопросы, связанные с применением живой полиомиелитной пероральной вакцины.

В 1950-х гг. были разработаны два различных подхода к предупреждению полиомиелита при помощи вакцинации. Солк Д. и Янгнер Д. в 1959 г. создали первую инактивированную формалином вакцину (ИПВ). В этот же период времени велись исследования по созданию живой оральной вакцины (ОПВ) из аттенуированных штаммов полиовируса, созданных А. Сэбином. Появление первых вакцин против полиомиелита ознаменова-

лось значительным прогрессом, вследствие чего полиомиелит более не рассматривался как фатальное заболевание, но как инфекция, которую можно предупредить с помощью вакцинации. Важной особенностью вакцинопрофилактики полиомиелита является наличие двух типов вакцины — инактивированной (убитой) и живой. Оба вида вакцин включают три антигенных компонента против трех типов полиовируса (1, 2 и 3 типы). В настоящее время в Российской Федерации применяются инактивированные и живые полиомиелитные вакцины. Каждая из вакцин имеет свои преимущества и недостатки.

Инактивированная полиомиелитная вакцина (ИПВ)

Действующее начало ИПВ — антиген вирионов диких штаммов трех иммунологических типов вируса полиомиелита: 1 тип Mahoney, 2 тип MEF-1, 3 тип Saukett, которые выращиваются в культуре клеток Vero или диплоидных клеток человека.

Номинальный состав вакцины представлен, по крайней мере, 40 единицами типа 1, 8 единицами типа 2 и 32 единицами типа 3 D-антигена. D-антиген — антиген, по которому определяются конечные концентрации вирусов 1, 2 и 3 типов, включенных в трехвалентную ИПВ.

ИПВ вызывает образование специфических антител, нейтрализующих вирус в крови и препятствующих проникновению вируса к двигательным нейронам спинного мозга и разрушению их. ИПВ достаточно эффективна, безопасна. Она является специфической составляющей многокомпонентных детских вакцин, в том числе вакцин, содержащих дифтерийный, столбнячный, коклюшный компоненты. Однако инактивированные вакцины обладают более низкой эффективностью по сравнению с живой пероральной полиомиелитной вакциной (ОПВ), ИПВ не защищает ткани желудочно-кишечного тракта, не вызывает местного иммунитета в кишечнике вакцинированного и тем самым не ограничивает циркуляцию диких полиовирусов в популяции, поэтому циркулирующие дикие полиовирусы могут стать причиной эпидемий. Технология производства ИПВ достаточно трудоемка и требует строго соблюдения контроля за полнотой инактивации.

Живая пероральная полиомиелитная вакцина (ОПВ)

Вакцина представляет собой препарат из аттенуированных штаммов А. Сэбина вируса полиомиелита тип 1 — LSc2ab, тип 2 — P712 Ch 2ab и тип 3 — Leon 12a,b, выращенных на первичной культуре клеток почек африканских зеленых мартышек или на первичной культуре клеток почек африканских зеленых мартышек с одним пассажем на перевиваемой культуре клеток линии Vero.

Иммунные ответы реципиента на вакцинацию ИПВ и ОПВ не одинаковы. Живая вакцина создает более длительный и эффективный протективный иммунитет, стимулирует выработку секреторных IgA кишечника и, как результат этого, ограничивает распространение дикого вируса [10]; при этом происходит замена циркулирующего дикого вируса вакцинными штаммами [11] и естественная спонтанная иммунизация людей при контакте с циркулирующими в природе вакцинными штаммами, что не наблюдается после введения ИПВ [10]. Следует отметить достаточно простой метод введения вакцины — пероральный, не требующий специальных условий, оборудования и аппаратуры. Вакцинальный процесс продолжается несколько недель и приводит к формированию стойкого пожизненного иммунитета [2].

¹ Клиника, диагностика и лечение острого полиомиелита. Методические рекомендации. М.: Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН; 1998.

² Руководство по проведению дополнительных мероприятий, направленных на ликвидацию полиомиелита. Женева: ВОЗ; 1997.

Преимущественное применение ОПВ для борьбы с полиомиелитом в большинстве стран мира началось в 1964 г. [12].

Прививками были охвачены 77 млн человек, или около 92 % наиболее восприимчивого к полиомиелиту контингента [13, 14].

Применение вакцины полиомиелитной пероральной живой аттенуированной 1, 2, 3 типов во всем мире убедительно доказало ее высокую эффективность, иммуногенность и безопасность. ОПВ стала вакциной «выбора», основным инструментом для выполнения задач Глобальной программы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по ликвидации полиомиелита в мире [15]. За более чем полувековой период использования ОПВ достигнуты значительные успехи: резко снизилась заболеваемость полиомиелитом в мире. Полиомиелит ликвидирован в четырех регионах: Американском — в 1994 г.; Западно-Тихоокеанском — в 2000 г.; Европейском — 2002 г. и в Юго-Восточном Азиатском — в 2014 г.³ Это достижение знаменует важный шаг вперед в глобальной ликвидации — в настоящее время 80 % населения планеты живет в сертифицированных на отсутствие полиомиелита регионах. В 1999 г. ВОЗ сообщила о большом успехе в деле борьбы с полиомиелитом — на Земле ликвидирован дикий полиовирус 2 типа.

В 2015 году ВОЗ официально подтвердила искоренение вируса полиомиелита 2 типа, нет случаев заболевания, связанных с вирусом полиомиелита 3 типа. Это послужило основанием для предложения ВОЗ повсеместно с 2016 года исключить из 3-валентной ОПВ компонент 2 типа полиовируса^{4, 5}.

В рамках исполнения решения ВОЗ на производстве ФГНБУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Россия) была разработана двухвалентная вакцина «БиВак полио» (вакцина полиомиелитная пероральная, двухвалентная, живая аттенуированная 1, 3 типов), которая успешно прошла исследования и зарегистрирована в Российской Федерации⁶.

В то же время отмеченные успехи вакцинации не могут полностью исключить теоретическую вероятность возникновения чрезвычайных ситуаций — выделение из природных очагов дикого вируса 2 типа. С целью скорейшей локализации и ликвидации возможных вспышек полиомиелита, связанных с полиовирусом типа 2, ВОЗ предполагает использовать живую моновалентную пероральную полиомиелитную вакцину типа 2 по эпидемическим показаниям⁷.

Проблемы применения вакцин для профилактики полиомиелита

Ожидаемая ликвидация полиомиелита в глобальном масштабе выдвинула ряд важнейших задач, в частности, проблему применения ОПВ.

Вакциноассоциированный паралитический полиомиелит (ВАПП) наблюдается в качестве редких серьезных побочных проявлений, ассоциируемых с ОПВ. Это осложнение, по разным источникам, наблюдается в 1 случае на 1,5–3 млн первично привитых и лиц, имевших контакт с ними⁸ [2, 12, 16, 17]. Источником заражения при этом является вакцинированный,

который выделяет вакцинный вирус через кишечник в течение нескольких недель. Согласно рекомендациям ВОЗ, к вакциноассоциированному паралитическому полиомиелиту могут быть отнесены заболевания, начало которых развивается не раньше 4-х и не позже 30-х сут после приема вакцины, а для контактных с вакцинированными максимальный срок удлиняется до 60-х сут; регистрируется выделение от больного вируса полиомиелита, родственного вакцинному штамму, и не менее чем 4-кратное нарастание специфических антител в крови. У заболевших развиваются вялые парезы или параличи без нарушений чувствительности¹ [2, 18]. В Российской Федерации ежегодно выявляется до 15 случаев вакциноассоциированного паралитического полиомиелита [19]. Однозначные причины возникновения ВАПП не установлены. Общеизвестно, что иммунодефицитное состояние является фактором риска для развития ВАПП как у реципиента, так и у контактного с ним. Определенную роль в патогенезе вакциноассоциированного паралитического полиомиелита играет генетическая нестабильность вакцинного штамма [19–22].

Помимо потенциальной способности ОПВ вызывать ВАПП существует еще одна специфическая проблема ее применения — возможность появления в циркуляции вакцинородственных полиовирусов (ВРПВ) с восстановленными свойствами патогенности. Источником формирования вакцинородственных полиовирусов, которые по вирулентности нередко не отличаются от диких штаммов и могут вызывать вспышки заболевания вакцинородственного полиомиелита (ВРП), могут быть живые вакцинные штаммы Сэбина [22–24].

Циркуляция ВРПВ происходит, как правило, среди населения с низким уровнем охвата вакцинацией против полиомиелита. В случае возникновения условий для многократного пассивирования вакцинных штаммов полиомиелита через организм людей (неиммунных к полиомиелиту) создаются возможности для возникновения ВРП. Обычно эти вспышки носят ограниченный характер и их быстро локализуют с помощью ОПВ. Учитывая этот факт, в ряде развитых стран предпочитают более дорогую и безопасную ИПВ.

Широкое использование указанных вакцин в практике здравоохранения привело к почти полному прекращению циркуляции диких штаммов полиовирусов и позволило резко снизить заболеваемость полиомиелитом во всех странах, что явилось фундаментом для принятия ВОЗ в 1988 г. глобальной программы ликвидации полиомиелита.

Современная стратегия ликвидации полиомиелита, рекомендованная ВОЗ, включает следующие основные подходы² [25–27]:

- поддержание на высоком уровне (не менее 95 %) охвата детей прививками против полиомиелита при проведении плановой (рутинной) иммунизации;
- проведение Национальных дней иммунизации в странах эндемичных или бывших эндемичных по полиомиелиту;
- организация массовых прививок на территориях высокого риска циркуляции диких полиовирусов, такой подход получил название «подчиняющаяся иммунизация»;

³ Bulletin of the WHO 2014; 92:466. <https://dx.doi.org/10.2471/2FBTL.14.142273>

⁴ Polio vaccines: WHO position paper, January 2014. Wkly Epidemiol Rec. 2014;89(9):73–92.

⁵ Стратегический план ликвидации полиомиелита и осуществления завершающего этапа в 2013–2018 гг. ВОЗ. <http://www.who.int/topics/poliomyelitis/strategy/ru/>

⁶ Нормативная документация «БиВак полио» (Вакцина полиомиелитная пероральная, двухвалентная, живая аттенуированная 1, 3 типов); НД: ЛП-003511-180316. <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%91%D0%B8%D0%92%D0%B0%D0%BA%20%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BE>

⁷ Нормативная документация «МоноВак полио тип 2» (Вакцина полиомиелитная пероральная, моновалентная, живая аттенуированная 2 типа); НД: ЛП 004115-010217. <https://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx?s=%D0%9C%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%92%D0%B0%D0%BA%20%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BE>

⁸ Садовникова ВН. Эпидемиологический надзор за полиомиелитом на этапе его ликвидации: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2002.

- совершенствование качества эпидемиологического надзора за острыми вялыми параличами.

В рамках реализации Глобальной программы ликвидации полиомиелита оценка качества препаратов, применяемых в стране многие годы, не потеряла своей актуальности [28]. Все существующие вакцины для профилактики полиомиелита по основным показателям качества соответствуют международным требованиям, в том числе рекомендациям ВОЗ. Все вакцины производятся с соблюдением основных правил надлежащей практики производства (GMP).

В таблицах 1, 2 и 3 представлены вакцины, зарегистрированные и применяемые на территории Российской Федерации.

В Национальный календарь профилактических прививок вакцина от полиомиелита для детей и взрослых была введена в 1960–1961 гг. Для полиомиелита, учитывая, что риск возникновения заболевания увеличивается с возрастом, вакцинацию начинают с 3-месячного возраста.

Обязательность вакцинации устанавливается законодательством страны. В России в 2002 г. изменен Национальный календарь профилактических прививок, в котором увеличен с 1 до 1,5 месяцев интервал при проведении второй вакцинации против полиомиелита, перенесена с 7 на 14 лет последняя ревакцинация. В 2008 г. в Национальный календарь профилактических прививок была введена ИПВ [2].

В таблице 4 представлены сроки проведения вакцинации и ревакцинации против полиомиелита.

В соответствии с Национальным календарем профилактических прививок первая и вторая вакцинация против полиомиелита проводится детям ИПВ в соответствии с инструкцией по применению ИПВ. Третья вакцинация и последующие ревакцинации — живой пероральной полиомиелитной вакциной. Детям, рожденным от матерей с ВИЧ-инфекцией, детям, находящимся в домах ребенка, третья вакцинация и последующие ревакцинации против полиомиелита проводятся ИПВ.

Таблица 1. Инактивированные вакцины для профилактики полиомиелита
Table 1. Inactivated polio vaccines

Название препарата, производитель, страна	Антигенный состав вакцины	Содержание D-антигена в одной дозе («Специфическая активность»)
Имовакс Полио®, Санофи Пастер С.А., Франция	Вирусы полиомиелита: Тип 1 — штамм Mahoney Тип 2 — штамм MEF-1 Тип 3 — штамм Saukett	Для типа 1 — от 20 до 43 ЕД Для типа 2 — от 5 до 9 ЕД Для типа 3 — от 17 до 36 ЕД
Полиорикс®, ГлаксоСмитКляйн Байолоджикалз с.а., Бельгия		Для типа 1 — не менее 24 ЕД Для типа 2 — не менее 4,8 ЕД Для типа 3 — не менее 19,2 ЕД
ПОЛИМИЛЕКС®, Билтховен Биолоджикалз Б.В. Нидерланды; и ООО «Нанолек», Россия		Для типа 1 — не менее 30 ЕД Для типа 2 — не менее 6 ЕД Для типа 3 — не менее 24 ЕД

Таблица 2. Комбинированные инактивированные вакцины для профилактики полиомиелита
Table 2. Combination inactivated polio vaccines

Название препарата, производитель, страна	Антигенный состав вакцины	Содержание D-антигена в одной дозе («Специфическая активность»)
Пентаксим® (вакцина для профилактики дифтерии и столбняка адсорбированная, коклюша ацеллюлярная, полиомиелита инактивированная, инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> тип b конъюгированная), Санофи Пастер С.А., Франция	Вирусы полиомиелита: Тип 1 — штамм Mahoney Тип 2 — штамм MEF-1 Тип 3 — штамм Saukett	Для типа 1 — от 20 до 43 ЕД Для типа 2 — от 5 до 9 ЕД Для типа 3 — от 17 до 36 ЕД
Тетраксим (вакцина для профилактики дифтерии и столбняка адсорбированная, коклюша ацеллюлярная, полиомиелита инактивированная), Санофи Пастер С.А., Франция		
Инфанрикс® Гекса (вакцина для профилактики дифтерии, столбняка, коклюша (бесклеточная), полиомиелита (инактивированная), гепатита В комбинированная, адсорбированная в комплексе с вакциной для профилактики инфекции, вызываемой <i>Haemophilus influenzae</i> тип b конъюгированной, адсорбированной), ГлаксоСмитКляйн Байолоджикалз с.а., Бельгия		Для типа 1 — от 24 до 56 ЕД Для типа 2 — от 4,8 до 11 ЕД Для типа 3 — от 19,2 до 45 ЕД

Таблица 3. Живые вакцины для профилактики полиомиелита
Table 3. Live polio vaccines

Название препарата	Антигенный состав вакцины	Содержание в одной прививочной дозе инфекционных единиц («Специфическая активность»)
БиВак полио	Вирусы полиомиелита: Тип 1 — штамм LSc2ab Тип 3 — штамм Leon 12a,b	Для типа 1 — не менее 10 ^{6,0} ТЦД ₅₀ Для типа 3 — не менее 10 ^{5,5} ТЦД ₅₀
МоноВак полио тип 2	Вирусы полиомиелита Тип 2 — штамм P712 Ch 2ab	Для типа 2 — не менее 10 ^{5,0} ТЦД ₅₀

Таблица 4. Сроки проведения вакцинации и ревакцинации против полиомиелита в России
Table 4. Time frames for vaccination and revaccination against polio in Russia

Иммунизация	Вакцинация			Ревакцинация		
	3 мес.	4,5 мес.	6 мес.	18 мес.	20 мес.	14 лет
Возраст ребенка	3 мес.	4,5 мес.	6 мес.	18 мес.	20 мес.	14 лет
Полиовакцины	ИПВ	ИПВ	ОПВ	ОПВ	ОПВ	ОПВ

Вакцинация против полиомиелита по эпидемическим показаниям проводится ОПВ в соответствии с инструкцией по применению ОПВ⁹.

Используемая в России схема вакцинации по Национальному календарю профилактических прививок на сегодняшний день является оптимальной: применение ИПВ приведет к исчезновению случаев ВАПП, а последующие повторные введения ОПВ обеспечат развитие напряженного и стойкого иммунитета. Отмечено, что у лиц, получающих ревакцинацию ОПВ на фоне первичного курса ИПВ, не наблюдается выделение полиовирусов из носоглотки и значительно уменьшается продолжительность массивного выделения вируса со стулом [11, 29].

За 30-летний период со дня принятия программы глобальной ликвидации полиомиелита был достигнут колоссальный успех в деле искоренения заболеваемости полиомиелитом. Однако мнения специалистов по вопросу вакцинации расходятся. Многие ученые и врачи считают, что пришло время изменить стратегию борьбы с полиомиелитом и отойти от понятия «искоренение вируса», а перейти к созданию программы, чтобы удерживать полиомиелит под эффективным контролем и поддерживать состояние низкой заболеваемости полиомиелитом в мире с применением как ИПВ, так и ОПВ [30–33].

Заключение

Зарегистрированные и применяемые в Российской Федерации вакцины (живые и инактивированные) для профилактики полиомиелита производятся с соблюдением основных правил надлежащей практики производства и отвечают всем международным требованиям, в том числе рекомендациям ВОЗ. Применение вакцин в практике здравоохранения привело к почти полному прекращению циркуляции диких штаммов полиовирусов.

Всемирная ассамблея здравоохранения в 1988 г. объявила Глобальную программу ликвидации полиомиелита. Программа успешно выполняется. Полиомиелит ликвидирован в четырех регионах. В настоящее время 80 % населения планеты живет в сертифицированных на отсутствие полиомиелита регионах. В 2015 г. ВОЗ официально подтвердила искоренение вируса полиомиелита 2 типа. Это послужило основанием для исключения с 2016 года из 3-валентной ОПВ компонент 2 типа полиовируса и разработки новой вакцины «БиВак полио» на основе 1 и 3 типов вируса полиомиелита и включения ее в Национальный календарь профилактических прививок.

Опыт использования ОПВ показал, что в отдельных случаях применение ОПВ может привести к развитию вакциноассоциированного паралитического полиомиелита. Живые вакцинные штаммы Сэбина могут быть источником формирования вакцинородственных полиовирусов.

Эти наблюдения обусловили необходимость разработки новой стратегии заключительного этапа ликвидации полиомиелита, в частности введения в Национальный календарь профилактических прививок для плановой иммунизации инактивированной полиовакциной.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

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

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

Литература / References

1. Винокуров КА. *Эпидемический детский паралич (полиомиелит)*. М.; 1956. [Vinokurov KA. *Infantile Paralysis (Polio-myelitis)*. Moscow; 1956 (In Russ.)]
2. Медуницын НВ. *Вакцинология*. М.: Триада-Х; 2010. [Medunitsyn NV. *Vaccinology*. Moscow: Triada-X; 2010 (In Russ.)]
3. Таточенко ВК, Озерецковский НА. *Иммунопрофилактика-2018*. Справочник, 13-е издание, расширенное. М.; 2018. [Tatochenko VK, Ozereckovskiy NA. *Immunoprophylaxis-2018*. Handbook, 13th ed, expanded. Moscow; 2018]
4. Рахманова АГ, Неверов ВА, Пригожина ВК. *Инфекционные болезни. Руководство*. СПб: Питер; 2001. [Rahmanova AG, Neverov VA, Prigozhina VK. *Infectious Diseases. Manual*. St. Petersburg: Piter; 2001 (In Russ.)]
5. Турьянов МХ, Царегородцев АД, Лобзин ЮВ. *Инфекционные болезни*. М.: Гэотар медицина; 1998. [Turyanov MH, Tzaregorodtzev AD, Lobzin YuV. *Infectious Diseases*. Moscow: Geotar meditsina; 1998 (In Russ.)]
6. Беляков ВД, Яфаев РХ. *Эпидемиология*. М.: Медицина; 1989. [Belyakov VD, Yafaev RH. *Epidemiology*. Moscow: Meditsina; 1989 (In Russ.)]
7. Болотовский ВМ. Полиомиелит. В кн.: Покровский ВИ, ред. *Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней*. М.: Медицина; 1993. [Bolotovskiy VM. Poliomyelitis. In: Pokrovskiy VI, ed. *Manual on Epidemiology of Infectious Diseases*. Moscow: Meditsina; 1993 (In Russ.)]
8. Львов ДК, ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: Медицинское информационное агентство; 2013. [Lvov DK, ed. *Manual on Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2013 (In Russ.)]
9. Львов ДК, ред. *Медицинская вирусология: Руководство*. М.: Медицинское информационное агентство; 2008. [Lvov DK, ed. *Medical Virology: Manual*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2008 (In Russ.)]
10. Ogra PL, Karzon DT, Righthand F, MacGillivray M. Immunoglobulin response in serum and secretions after immunization with live and inactivated poliovaccine and natural infection. *N Engl J Med*. 1968;279:893–900. <https://doi.org/10.1056/NEJM196810242791701>

⁹ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» (с изменениями на 13 апреля 2017 года).

11. Cossart YE. Evolution of poliovirus since the introduction of attenuated vaccine. *Br Med J*. 1977;1(6077):1621–3.
12. Sutter RW, Cochi SL, Melnick JL. Live attenuated poliovirus vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, eds. *Vaccines*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 1999. P. 364–408.
13. Дроздов СГ, Лашкевич ВА. Пятидесятилетие Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН. *Вопросы вирусологии*. 2005;50(3):4–7. [Drozdov CG, Lashkevich VA. The fiftieth anniversary of the Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2005;50(3):4–7 (In Russ.)]
14. Чумаков МП, Ворошилова МК, Дроздов СГ. *Некоторые итоги по массовой иммунизации населения Советского Союза против полиомиелита живой вакциной из штаммов Альберта Б. Сэбина*. М.: Академия медицинских наук СССР. Институт по изучению полиомиелита. 4-я Научная сессия и Международный симпозиум по живой вакцине против полиомиелита. М.; 1960. [Chumakov MP, Voroshilova MK, Drozdov CG. *Some results of mass immunization of the population of Soviet Union against polio with live vaccine based on from Albert Sabin strains*. Moscow; 1960 (In Russ.)]
15. Dowdle WR, De Gourville E, Kew OM, Pallansch MA, Wood DJ. Polio eradication: the OPV paradox. *Rev Med Virol*. 2003;13(5):277–91.
16. Nkwane BM, Wassilak SGF, Orenstein WA, Bart KJ, Schonberger LB, Hinman AR, Kew OM. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis. United States: 1973 through 1984. *JAMA*. 1987;257(10):1335–40. <https://doi.org/10.1001/jama.1987.03390100073029>
17. Медуницын НВ, Миронов АН, Мовсесянц АА. *Теория и практика вакцинологии*. М.: Ремедиум; 2015. [Medunitsyn NV, Mironov AN, Movsesyants AA. *Theory and Practice of Vaccinology*. Moscow: Remedium; 2015 (In Russ.)]
18. Еремеева ТП, Лещинская ЕВ, Короткова ЕА, Яковенко МЛ, Черкасова ЕА, Черныавская ОП и др. Случаи полиомиелита в Российской Федерации в 1998–2004 гг. *Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН, Медицинская вирусология*. 2006;23:31–42. [Eremeeva TP, Leshinskaya EV, Korotkova EA, Yakovenko ML, Cherkasova EA, Chernyavskaya OP, et al. Cases of poliomyelitis in Russian Federation 1998–2004. *Trudy instituta poliomieliita i virusnyh ehncefalitov imeni M.P. Chumakova RAMN, Meditsinskaya Virusologiya = Proceedings of the Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis of Russian Academy of Medical Sciences, Medical Virology*. 2006; 23:31–42 (In Russ.)]
19. Ермолович МА, Фельдман ЭВ, Самойлович ЕО, Кузюкова НА, Левин ВИ. Характеристика иммунного статуса больных с вакциноассоциированным полиомиелитом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2002;(2):42–50. [Ermolovich MA, Feldman EV, Samoilovich EO, Kuzovkova NA, Levin VI. Characteristic of immune status of patients with vaccine-associated poliomyelitis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2002;(2):42–50 (In Russ.)]
20. Khetsuriani N, Prevots DR, Quick L, Elder ME, Pallansch M, Kew O, Sutter RW. Persistence of vaccine-derived polioviruses among immunodeficient persons with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *J Infect Dis*. 2003;188(12):1845–52. <https://doi.org/10.1086/379791>
21. Sutter RW, Prevots DR. Vaccine-associated paralytic poliomyelitis among immunodeficient persons. *Infect Med*. 1994;11:426–38.
22. Kew OM, Sutter RW, de Gourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA. Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol*. 2005;59:587–635. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.58.030603.123625>
23. Cherkasova EA, Laassri M, Chizhikov V, Korotkova E, Dragunsky E, Agol VI, Chumakov K. Microarray analysis of evolution of RNA viruses: evidence of circulation of virulent highly divergent vaccine-derived polioviruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(16):9398–403. <https://doi.org/10.1073/pnas.1633511100>
24. Kew OM, Wright PF, Agol VI, Delpyroux F, Shimizu H, Nathanson N, Pallansch MA. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. *Bull WHO*. 2004;82(1):16–23.
25. Облапенко Г, Wassilak S, Липская Г. Ликвидация полиомиелита в Европейском регионе ВОЗ: состояние, успехи и проблемы, 1988–1998 гг. В кн.: *Материалы Второй Международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями»*. СПб; 1998. С. 5–7. [Oblapenko G, Wassilak S, Lipskaya G. Poliomyelitis eradication in the WHO European region: status, successes and challenges, 1988–1998. In: *Materials of the Second international conference «Ideas of Pasteur on combatting infections»*. St. Petersburg; 1998. P. 5–7 (In Russ.)]
26. Облапенко ГП. *Ликвидация полиомиелита в Европе. Актовая речь к 80-летию Санкт-Петербургского Института Пастера*. СПб; 2003. [Oblapenko GP. *Poliomyelitis eradication in Europe. Commencement address to the 80th anniversary of the St. Petersburg Pasteur institute*. St. Petersburg; 2003 (In Russ.)]
27. Лещинская ЕВ, Черныавская ОП. Клинические аспекты международной программы ликвидации острого полиомиелита. В кн.: *Материалы научной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения М.П. Чумакова «Актуальные проблемы медицинской вирусологии»*. М.; 1999. С. 35. [Leshinskaya EV, Chernyavskaya OP. Clinical Aspects of the International Programme for Acute Poliomyelitis Eradication. In: *Materials of the Scientific Conference in Honor of the 90th Anniversary of M.P. Chumakov «Actual Problems of Medical Virology»*. Moscow; 1999. P. 35 (In Russ.)]
28. Карпова ЕВ, Сангаджиева АД, Мамонтова ТВ, Фадейкина ОВ, Волкова РА, Саркисян КА, Мовсесянц АА. Аттестация отраслевого стандартного образца специфической активности вакцины полиомиелитной пероральной, двухвалентной, живой аттенуированной 1, 3 типов — БиВак полио. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(2):122–7. [Karpova EV, Sangadzhieva AD, Mamontova TV, Fadeykina OV, Volkova RA, Sarkisyan KA, Movsesyants AA. Certification of the industry reference standard for the specific activity of «BiVac polio» — live attenuated bivalent oral polio vaccine type 1 and 3. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(2):122–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2017-17-2-122-127>
29. Kim-Farley RJ, Rutherford G, Lichfield P, Hsu ST, Orenstein WA, Schonberger LB, et al. Outbreak of paralytic poliomyelitis, Taiwan. *Lancet*. 1984;2(8415):1322–4. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(84\)90831-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(84)90831-6)
30. Arita I, Nakane M, Fenner F. Public Health. Is polio eradication realistic? *Science*. 2006;312(5775):852–4. <https://doi.org/10.1126/science.1124959>
31. Сейбиль ВБ, Малышкина ЛП. Всемирная организация здравоохранения и проблема ликвидации инфекционных заболеваний в мире. *Вопросы вирусологии*. 2005;50(3):60. [Seibil VB, Malyshkina LP. World Health Organization and the problem of eradication of infectious diseases in the World. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2005;50(3):60 (In Russ.)]
32. Сейбиль ВБ, Малышкина ЛП. Ликвидация вируса полиомиелита — задача без видимого решения в ближайшие годы. *Вопросы вирусологии*. 2011;56(1):41–4. [Seibil VB, Malyshkina LP. Poliomyelitis eradication is a visible unsolved problem in the coming years. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2011;56(1):41–4 (In Russ.)]
33. Roberts L. Global Health. Polio eradication: is it time to give up? *Science*. 2006;312(5775):832–5. <https://doi.org/10.1126/science.312.5775.832>

Об авторах

Карпова Елена Викторовна, канд. мед. наук, главный эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0510-1022>

Саркисян Каринэ Арташесовна, канд. мед. наук, начальник лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, профессор, начальник Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России; профессор кафедры фармакологии ФGAOY BO «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 11.05.2018
После доработки 15.11.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Elena V. Karpova, Candidate of Medical Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0510-1022>

Karine A. Sarkisyan, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Artashes A. Movsesyants, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy General Director for Medicinal Products Evaluation of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products; Professor of the Department of Pharmacology of I. M. Sechenov First MSMU, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Received 11 May 2018
Revised 15 November 2018
Accepted 15 November 2018

Оценка стабильности производства коклюшного компонента АКДС-вакцины по показателям иммуногенной активности и специфической безопасности с использованием карт Шухарта

И. А. Алексеева*, О. В. Перельгина, Е. Д. Колышкина

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

Эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) связывают возрождение коклюша с широким использованием бесклеточных коклюшных вакцин (БКВ) в составе комбинированных препаратов. В связи с этим ВОЗ призывает страны, которые еще не перешли на использование БКВ, продолжать использовать для первичной вакцинации цельноклеточные коклюшные вакцины (ЦКВ). Практика применения коклюшных вакцин продемонстрировала, что предприятия не всегда выпускают высокоэффективные препараты. Использование статистических методов контроля качества образцов позволяет стабилизировать технологический процесс, что приводит к выпуску более однородной продукции, а также не допускает производства некачественных препаратов. В данной работе с помощью контрольных карт Шухарта ретроспективно была оценена стабильность производства ЦКВ — коклюшного компонента АКДС-вакцины. При построении карт были использованы значения основных показателей качества ЦКВ — иммуногенной активности и специфической безопасности. Установлено, что на протяжении анализируемого периода с января 2017 по март 2018 г. технологический процесс на предприятии не всегда находился в статистически управляемом состоянии. В этой ситуации увеличивался риск производства неоднородной продукции, а также брака. Для повышения качества и однородности выпущенных серий коклюшного компонента службам контроля и обеспечения качества предприятия необходимо широко и в режиме реального времени использовать карты Шухарта.

Ключевые слова: цельноклеточная коклюшная вакцина; бесклеточная коклюшная вакцина; оценка стабильности производства коклюшного компонента АКДС-вакцины; карты Шухарта

Для цитирования: Алексеева ИА, Перельгина ОВ, Колышкина ЕД. Оценка стабильности производства коклюшного компонента АКДС-вакцины по показателям иммуногенной активности и специфической безопасности с использованием карт Шухарта. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(4):243–248. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-243-248>

Контактное лицо: Алексеева Ирина Андреевна; Alekseeval@expmed.ru

Estimation of Consistency of Production of the Pertussis Component of DTP Vaccine in Terms of Immunogenic Activity and Specific Safety Using Shewhart Charts

I. A. Alekseeva*, O. V. Perelygina, E. D. Kolyshkina

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

WHO experts attribute the resurgence of whooping cough to the wide use of acellular pertussis vaccines (aPs) as components of combination products. In this regard, WHO encourages countries that have not yet switched to the use of aPs to continue to use whole-cell pertussis vaccines (wPs) for primary vaccination. The experience of using pertussis vaccines has shown that companies do not always produce highly efficacious products. The use of statistical methods of samples quality control helps to ensure consistency of the technological process, which results in the production of more homogeneous products, and rules out the possibility of producing low-quality products. This paper presents the results of retrospective evaluation of the consistency of the wP (as a pertussis component of the DTP vaccine) production using Shewhart control charts. It was shown that at some points in time during the analyzed period from January 2017 until March 2018 the technological process of the company lacked proper statistical control. This increased the risk of producing non-uniform and defective products. In order to improve the quality and consistency of pertussis component batches, the company's quality control and quality assurance services should make extensive use of Shewhart charts on a real-time basis.

Key words: whole-cell pertussis vaccine; acellular pertussis vaccine; assessment of consistency of DTP pertussis component production; Shewhart control charts

For citation: Alekseeva IA, Perelygina OV, Kolyshkina ED. Estimation of consistency of production of the pertussis component of DTP vaccine in terms of immunogenic activity and specific safety using Shewhart charts. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(4):243–248. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-243-248>

Corresponding author: Irina A. Alekseeva; Alekseeval@expmed.ru

Коклюш — респираторное высококонтагиозное заболевание, вызываемое бактериями *Bordetella pertussis*. В большей степени опасен для детей в возрастной группе до 1 года, у которых заболевание протекает особенно тяжело¹. Для этой группы характерны наиболее высокая заболеваемость, частота осложнений и смертность [1, 2].

Для защиты от коклюшной инфекции в настоящее время используют комбинированные препараты с цельноклеточной (ЦКВ) или бесклеточной (БКВ) коклюшной вакциной. Значения показателя защитной активности ЦКВ, выпущенных разными предприятиями, могут колебаться в широких пределах. Это зависит от возможности предприятия произвести высококачественную вакцину. Материалы 49 рандомизированных контролируемых исследований продемонстрировали, что клиническая эффективность ЦКВ для детей декретированного возраста составила 78 %, значения показателя колебались среди отдельных препаратов и составляли от 46 до 92 %².

В сравнительных исследованиях по оценке клинической эффективности бесклеточных вакцин установлено, что высокоактивные БКВ менее эффективны, чем высокоэффективные ЦКВ [3].

Со времени начала использования коклюшных вакцин и практически до конца XX века коклюш являлся вакциноуправляемой инфекцией. В настоящее время, на фоне широкого охвата населения прививками, во многих странах мира наблюдается рост заболеваемости коклюшем^{3,4,5} [4]. Эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) полагают, что одной из основных причин возрождения коклюша является широкое использование БКВ, индуцирующих короткий поствакцинальный иммунитет, который слабо защищает от инфицирования и передачи инфекции^{3,6} [5, 6]. В этой связи ВОЗ призывает те страны, которые еще не перешли на использование БКВ, продолжать использовать для первичной вакцинации ЦКВ⁷.

Таким образом, вакцинация, как и естественная инфекция, не вызывают длительной защиты от коклюша⁸ [7, 8]. В связи с этим важным и актуальным является использование для защиты населения высококачественных профилактических препаратов, индуцирующих максимально длительный иммунный ответ. Работа по улучшению качества препаратов ведется в разных направлениях. Одно из перспективных направлений — использование метода статистического управления процессами.

В 20-х годах прошлого века Вальтер Шухарт (W. Shewhart) высказал идею о возможности проведения статистического контроля качества образцов с помощью контрольных карт [9]. Он продемонстрировал, что при любом самом совершенном технологическом процессе невозможно выпустить совершенно одинаковую продукцию, всегда имеет место определенный разброс контролируемых показателей. В идеале показатели разброса находятся в допустимых пределах. Считается, что этот разброс не имеет видимых причин, а представляет собой результат действия множества внутренних, присущих самому процессу, относительно незначительных, не поддающихся учету отклонений (например, влажность, вибрация, температура и т. п. — это «случайные» причины). Иными словами, любому

процессу свойственна собственная вариабельность, которая носит статистический характер.

Допустимые рамки естественной вариабельности нарушаются, если появляются образцы, изготовленные, например, с нарушениями технологического процесса. Показатели характеристик данных образцов выходят за рамки естественной вариабельности. В этом случае считается, что на образцы воздействовали особые причины (неисправность прибора, человеческий фактор и т. п. — «неслучайные» или особые причины).

Для выявления особых причин повышенной вариабельности продукции, последующей их ликвидации и предназначены карты Шухарта. Идеи Шухарта получили признание во всем мире, и в настоящее время статистическое управление процессами широко используют в разных областях производства для обеспечения и поддержания процессов на приемлемом и стабильном уровне, тем самым гарантируя соответствие продукции установленным требованиям.

Испытательный центр экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов (ИЦЭК МИБП), входящий в состав ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, проводит испытания отдельных образцов серий АКДС-вакцины по регламентированным показателям, отраженным в нормативной документации (НД). Образцы, которые выдержали испытания, могут гарантировать качество всей серии вакцины только при условии ее однородности. Достигнуть однородности изготовленной серии возможно только при стабильном, статистически управляемом производстве. Это обусловлено тем, что результаты, полученные при испытании образцов одной серии на соответствие нормативным требованиям, при повторных испытаниях могут различаться. И в таком случае используется статистическая обработка, которая показывает достоверность этих отличий.

Целью данной работы являлась оценка стабильности производства коклюшного компонента АКДС-вакцины. Задачей — сбор и систематизация данных по основным показателям качества коклюшного компонента, ретроспективное проведение на их основе анализа и оценки стабильности производственного процесса с помощью построенных карт Шухарта.

Материалы и методы

В проведенном исследовании были использованы результаты испытаний образцов серий АКДС-вакцины, поступающих в ИЦЭК МИБП для оценки соответствия препарата нормативным требованиям. Кроме того, были использованы паспортные данные серий АКДС-вакцины предприятия-производителя. Для построения карт Шухарта были выбраны основные показатели качества коклюшного компонента: иммуногенная активность и специфическая безопасность. Испытания проводили в соответствии с МУК 4.2.2317-08 (Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхисептикозных бактерий) и с общей фармакопейной статьей 1.7.2.0005.15 «Иммуногенность коклюшной суспензии и цельноклеточного коклюшного компонента ком-

¹ Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, April 2015: Conclusions and Recommendations. *Wkly Epidemiol Rec.* 2015;90(22):261–78.

² WHO-recommended standards for surveillance of selected vaccine-preventable diseases (WHO/V&B/03.01). WHO; 2003.

³ WHO SAGE Pertussis Working Group. Background paper. SAGE, April 2014. WHO; 2014. http://www.who.int/immunization/sage/meetings/2014/april/1_Pertussis_background_FINAL4_web.pdf?ua=

⁴ Summary of notifiable diseases — United States, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;59(53):1–111.

⁵ Pertussis epidemic — Washington, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61(28):517–22.

⁶ Meeting of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, April 2014 — conclusions and recommendations. *Wkly Epidemiol Rec.* 2014;89(21):221–36.

⁷ Pertussis Vaccines: WHO Position Paper — August 2015. *Wkly Epidemiol Rec.* 2015;90(35):433–58.

⁸ The immunological basis for immunization series: Module 4: Pertussis — update 2009. WHO; 2010.

бинированных вакцин». Учитывая сложность и длительность проведения опыта при определении иммуногенной активности и высокую стоимость испытаний как при определении иммуногенной активности, так и специфической безопасности, карты Шухарта были построены на основе индивидуальных значений результатов испытаний.

За период с января 2017 по март 2018 г. по анализируемым показателям были построены R- и X-карты. На R-карты были нанесены величины размахов значений иммуногенной активности образцов серий вакцины (абсолютная разность двух последовательных значений), на X-карты — результаты оценки иммуногенной активности или специфической безопасности коклюшного компонента.

Карта Шухарта — это график значений исследуемых показателей в зависимости от их порядковых номеров. По оси ординат графика откладывают значения показателя, по оси абсцисс — порядковый номер или номер серии. Центральная линия графика — это средняя арифметическая величина из всех значений анализируемого показателя. От центральной линии откладывают 1, 2 и 3 стандартных отклонения (σ). Значения $\pm 3\sigma$ — это две статистически определяемые контрольные границы относительно центральной линии. Значения $\pm 2\sigma$ — предупреждающие границы: значения, попадающие за пределы $\pm 2\sigma$, предостерегают о возможном выходе процесса из стабильного состояния статистической управляемости.

Предполагается, что технологический процесс проходит стабильно (находится в статистически управляемом состоянии), если его изменчивость вызвана только обычными причинами. При этом график предстает в виде колеблющихся около средней линии точек, которые укладываются в интервале $\pm 2\sigma$.

Если значение показателя, нанесенное на график, выходит за контрольные границы или значения выстраиваются в необычные структуры (тренды), то статистическая управляемость процессом ставится под вопрос. Подобная ситуация требует проведения анализа и поиска возможных особых причин.

Шухарт обозначил 8 критериев для особых причин, после появления которых на графике технологический процесс считают нестабильным (статистически неуправляемым):

- критерий 1 — одна точка вне зоны $\pm 3\sigma$;
- критерий 2 — девять точек подряд в зоне $\pm 1\sigma$ или по одну сторону от центральной линии;
- критерий 3 — шесть возрастающих или убывающих точек подряд;
- критерий 4 — четырнадцать попеременно возрастающих и убывающих точек;
- критерий 5 — две из трех последовательных точек в зоне $\pm 3\sigma$ или вне ее;
- критерий 6 — четыре из пяти последовательных точек в зоне $\pm 2\sigma$ или вне ее;
- критерий 7 — пятнадцать последовательных точек в зоне $\pm 1\sigma$, выше и ниже центральной линии;
- критерий 8 — восемь последовательных точек по обеим сторонам центральной линии и ни одной в зоне $\pm 1\sigma$ (согласно ГОСТ Р ИСО 7870-1-2011 «Статистические методы. Контрольные карты. Часть 1. Общие принципы»).

Анализ построенных карт проводили в соответствии с ГОСТ Р ИСО 7870-1-2011 и ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 «Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта».

Перед проведением построения карт была подтверждена нормальность распределения значений показателей.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Производство коклюшных вакцин характеризуется своими особенностями, обусловленными использованием в процессе живых микроорганизмов. В связи с этим процесс производства является чрезвычайно сложным: биологические процессы (например, культивирование бактерий *B. pertussis*) вносят свою вариабельность и отклонения в процесс. Учесть эти изменения можно, только используя статистические методы. Метод контрольных карт демонстрирует, действительно ли процесс находится в статистически управляемом состоянии, что чрезвычайно важно для получения однородной продукции.

Данная работа проведена на основе ретроспективного анализа результатов оценки основных показателей качества коклюшного компонента — иммуногенной активности и специфической безопасности. Используя паспортные данные по иммуногенной активности 50 серий АКДС-вакцины, произведенных в период с января 2017 по март 2018 г., были построены R- и X-карты Шухарта.

R-карта (рис. 1) демонстрирует определенное неблагополучие в технологическом процессе: всего одной точки не хватает

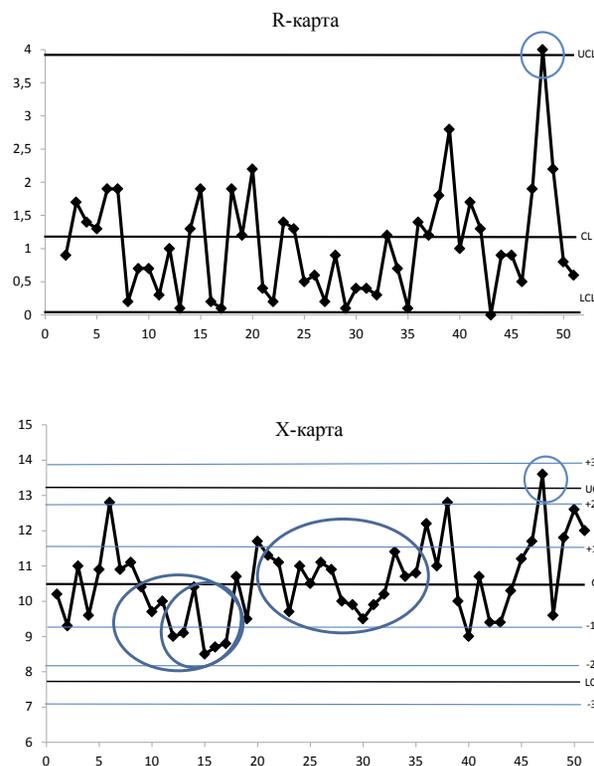


Рис. 1. Течение технологического процесса производства коклюшного компонента АКДС-вакцины. Ось ординат на R-карте — значения размахов показателя иммуногенной активности образцов вакцины; ось ординат на X-карте — значения иммуногенной активности образцов серий (МЕ/мл); ось абсцисс для обоих графиков — порядковый номер серии вакцины. UCL и LCL — верхняя и нижняя контрольные границы; CL — центральная линия; σ — стандартное отклонение.

Fig. 1. Production flow chart for the pertussis component of the DTP vaccine. Y axis on the R chart — ranges of immunogenic activity of vaccine samples; y axis on the X chart — immunogenic activity of batch samples (IU/ml); x axis for both charts — vaccine batch number. UCL and LCL — upper control level and lower control level; CL — center line; σ — standard deviation.

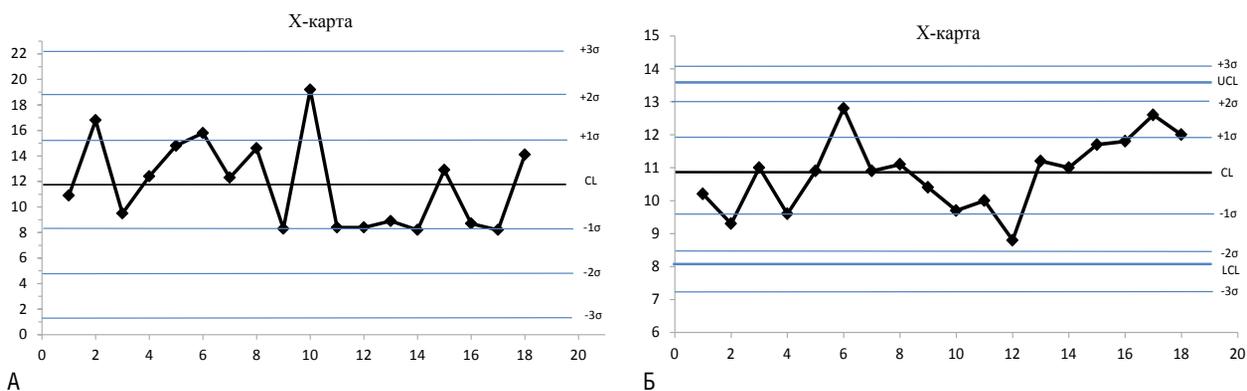


Рис. 2. X-карты, построенные по значениям иммуногенной активности коклюшного компонента: А — данные получены в Испытательном центре экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов; Б — значения по паспортным данным предприятия. Ось ординат — значения иммуногенной активности серий (МЕ/мл), ось абсцисс — порядковые номера серий. UCL и LCL — верхняя и нижняя контрольные границы; CL — центральная линия; σ — стандартное отклонение.

Fig. 2. X charts for the pertussis component immunogenic activity: А — data obtained in the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality; Б — passport values provided by the manufacturer. Y axis — immunogenic activity of batch samples (IU/ml); x axis — vaccine batch number. UCL and LCL — upper control level and lower control level; CL — center line; σ — standard deviation.

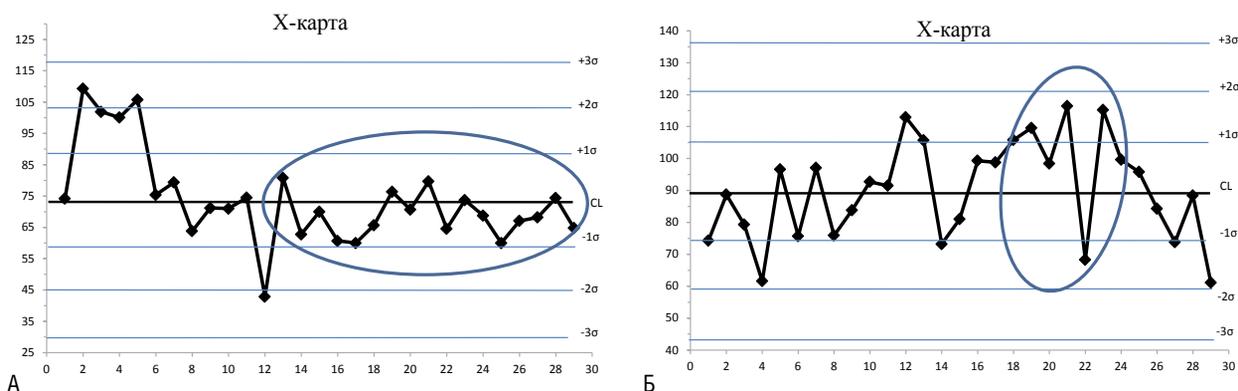


Рис. 3. X-карты, построенные по значениям специфической безопасности коклюшного компонента: А — данные получены в Испытательном центре экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов; Б — значения по паспортным данным предприятия. Ось ординат — прирост массы тела мышей, %, ось абсцисс — порядковые номера серий; CL — центральная линия; σ — стандартное отклонение.

Fig. 3. X charts for the pertussis component specific safety: А — data obtained in the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality; Б — passport values provided by the manufacturer. Y axis — % body weight gain in mice; x axis — vaccine batch number; CL — center line; σ — standard deviation.

до критерия 2 (в интервале номеров 25–32) и одна точка вышла за верхнюю контрольную границу. X-карта подтверждает состояние статистической неуправляемости технологического процесса: выявлены тренды, соответствующие критериям 2, 6 и 7.

В ИЦЭК МИБП за указанный период на соответствие требованию к иммуногенной активности коклюшного компонента были испытаны образцы 18 серий АКДС-вакцины и по полученным результатам построена карта Шухарта (рис. 2А).

Для сравнения аналогичная карта была построена по паспортным данным предприятия для тех же серий, которые были испытаны в ИЦЭК МИБП (рис. 2Б). При анализе карт необычные структуры или тренды выявлены не были. Карты показывают, что в тот период времени, когда были произведены данные серии вакцины, технологический процесс находился в статистически управляемом состоянии. Средняя арифметическая величина иммуногенной активности коклюшного компонента, определенная в ИЦЭК МИБП, составляет 11,8 МЕ/мл. Средняя арифметическая величина иммуногенной активности коклюшного компонента этих же серий вакцин по па-

спортным данным предприятия составляет 10,8 МЕ/мл. По данным ИЦЭК МИБП, полученные значения показателя иммуногенной активности располагаются равномерно относительно центральной линии — выше линии 50 % и ниже линии 50 %. По паспортным данным предприятия показатели иммуногенной активности этих же серий вакцины выше центральной линии располагаются в 44,4 % случаев, ниже — 55,6 %. Определение тесноты (силы) корреляционной связи между результатами, полученными в ИЦЭК МИБП, и паспортными данными предприятия по иммуногенной активности для этих же серий показало, что корреляция не достигает уровня статистической значимости. Отсутствие корреляционной связи между результатами может говорить о неоднородности серии. В то же время нельзя не учитывать сложность метода оценки иммуногенной активности коклюшного компонента, при котором проводят интрацеребральное заражение иммунизированных мышей живой вирулентной культурой *B. pertussis*. Подготовка и проведение опыта разными исполнителями в разных условиях не могли не отразиться на результатах

испытания. Из этого следует, что предприятие и ИЦЭК МИБП должны максимально согласованно работать над стандартизацией условий проведения испытания.

Из представленных данных по 50 сериям АКДС-вакцины следует, что технологический процесс на предприятии в 2017 — начале 2018 г. протекал нестабильно: были интервалы времени, когда производство находилось в статистически управляемом состоянии; но в целом за указанный период выявлены три критерия для особых причин, которые говорят о нестабильности процесса и статистической неуправляемости.

Подтверждают данное положение X-карты, построенные по результатам испытания специфической безопасности коклюшного компонента АКДС-вакцины (рис. 3). За период с января 2017 по март 2018 г. в ИЦЭК МИБП специфическая безопасность коклюшного компонента была оценена у образцов 29 серий АКДС-вакцины. На карте, построенной по результатам ИЦЭК МИБП, можно отметить точки, соответствующие значениям специфической безопасности для вакцин, произведенных в начале 2017 г., выходящие за «предупреждающие» границы $\pm 2\sigma$. После «предупреждения» последовал тренд, соответствующий критерию 7. Выявленный тренд свидетельствует, что технологический процесс в определенный промежуток времени находился в нестабильном состоянии и был статистически неуправляем.

X-карта, построенная по паспортным данным предприятия тех же серий вакцины, которые испытывали в ИЦЭК МИБП, подтверждает выявленное неблагополучие: на карте имеется тренд, соответствующий критерию 6 для особых причин. Корреляция между значениями показателя специфической безопасности, полученными в ИЦЭК МИБП, и паспортными данными предприятия, так же как и в случае с иммуногенной активностью, не достигает уровня статистической значимости.

Таким образом, для оценки стабильности технологического процесса изготовления коклюшного компонента был проведен ретроспективный анализ паспортных данных АКДС-вакцины, а также собственных данных, полученных при испытании вакцин, поступающих в ИЦЭК МИБП. С помощью контрольных карт Шухарта были статистически обработаны основные показатели качества коклюшного компонента: иммуногенная активность и специфическая безопасность. Необходимо отметить, что, согласно паспортным данным, изготовленные за период с января 2017 по март 2018 г. серии АКДС-вакцины по указанным показателям соответствовали требованиям НД и ВОЗ.

При использовании контрольных карт было выявлено, что технологический процесс на предприятии не всегда находился в статистически управляемом состоянии. Это означает, что на процесс в определенный промежуток времени воздействовали «неслучайные» (особые) причины. В этой ситуации увеличивался риск производства бракованной продукции. Конечный результат воздействия особых причин неизвестен: данные о возможном внутрипроизводственном браке в ИЦЭК МИБП отсутствуют.

Использование контрольных карт позволяет осуществлять постоянный надзор за технологическим процессом, что дает возможность вовремя обнаружить отклонения от стабильного состояния и ликвидировать неслучайные причины. Устранение неслучайных причин предотвращает их накопление и влияние на качество препарата.

Предприятие-производитель, добившись стабилизации технологического процесса в рамках допустимых границ колебания, в состоянии выпускать гарантированно качественную продукцию. В связи с этим полагаем, что широкое и постоянное (в режиме реального времени) использование карт Шухарта позволит предприятию своевременно выявлять отклонения

процесса от стабильного состояния, что повлечет повышение однородности и качества препарата.

Разработанная Шухартом стратегия позволяет избежать потерь, связанных с выпуском некачественной продукции. Суть его учения сводится к сбору информации о самом процессе, анализу и предпринятым действиям к самому процессу, а не к произведенным препаратам. Своевременно выявленные и ликвидированные особые причины позволят избежать потерь, связанных с производством некачественной продукции.

Считаем необходимым службам качества предприятия для своевременного выявления признаков отклонения технологического процесса от стабильного состояния и предотвращения внутрипроизводственного брака МИБП постоянно (в режиме реального времени) использовать карты Шухарта.

Выводы

1. Установлено, что производство предприятием коклюшного компонента АКДС-вакцины за период с января 2017 по март 2018 г. не всегда на протяжении технологического процесса находилось в статистически управляемом состоянии, что представляло угрозу для выпуска качественной и однородной продукции.

2. Для повышения качества и однородности выпущенных серий коклюшного компонента АКДС-вакцины службам контроля и обеспечения качества предприятия необходимо широко и в режиме реального времени использовать карты Шухарта.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

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

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

Литература / References

1. Terranella A, Asay GR, Messonnier ML, Clark TA, Liang JL. Pregnancy dose Tdap and postpartum cocooning to prevent infant pertussis: a decision analysis. *Pediatrics*. 2013;131(6):1748–56. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3144>
2. Cortese MM, Baughman AL, Zhang R, Srivastava PU, Wallace GS. Pertussis hospitalizations among infants in the United States, 1993 to 2004. *Pediatrics*. 2008;121(3):484–92. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-1393>
3. Gustafsson L, Hallander HO, Olin P, Reizenstein E, Storsaeter J. A controlled trial of a two-component acellular, a five-component acellular, and a whole-cell pertussis vaccine. *N Engl J Med*. 1996;334(6):349–55. <https://doi.org/10.1056/NEJM199602083340602>
4. Winter K, Harriman K, Zipprich J, Schechter R, Talarico J, Watt J, Chavez G. California pertussis epidemic, 2010. *J Pediatr*. 2012;161(6):1091–6. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.05.041>
5. Choi YH, Campbell H, Amirthalingam G, van Hoek AJ, Miller E. Investigating the pertussis resurgence in England and Wales, and options for future control. *BMC Med*. 2016;14(1):121. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0665-8>

- Gambhir M, Clark TA, Cauchemez S, Tartof SY, Swerdlow DL, Ferguson NM. A change in vaccine efficacy and duration of protection explains recent rises in pertussis incidence in the United States. *PLoS Comput Biol*. 2015;11(4):e1004138. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004138>
- Clark TA. Changing pertussis epidemiology: everything old is new again. *J Infect Dis*. 2014;209(7):978–81. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu001>
- Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund JA. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. *Pediatr Infect Dis J*. 2005;24(5):S58–61. <https://www.doi.org/10.1097/01.inf.0000160914.59160.41>
- Shewhart W. Statistical method from the viewpoint of quality control. N.Y.: Dover Publ., Inc.; 1939.

Об авторах

Алексеева Ирина Андреевна, д-р мед. наук, главный эксперт лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5586-2933>

Перельгина Ольга Викторовна, канд. мед. наук, начальник лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5029-3751>

Колышкина Елена Дмитриевна, инженер-лаборант лаборатории анатоксинов и антитоксических препаратов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Поступила 22.06.2018
После доработки 06.08.2018
Принята к публикации 09.08.2018

Authors

Irina A. Alekseeva, Doctor of the Medical Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Toxoids and Antitoxic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5586-2933>

Olga V. Perelygina, Candidate of the Medical Sciences, Head of the Laboratory of Toxoids and Antitoxic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-5029-3751>

Elena D. Kolyshkina, Engineering Lab Technician of the Laboratory of Toxoids and Antitoxic Products of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products

Received 22 June 2018
Revised 6 August 2018
Accepted 9 August 2018

Использование наборов реагентов для ОТ-ПЦР в реальном времени для оценки подлинности вакцин против кори, паротита и краснухи

А. С. Бинятова^{1,*}, Е. Д. Мыца¹, Н. В. Чертова¹, Р. А. Волкова¹, К. А. Саркисян¹, Т. Н. Ильясова¹, Т. Н. Юнасова¹,
А. А. Мовсесянц¹, В. А. Меркулов^{1,2}

¹ 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

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

В настоящее время подлинность вирусных вакцин против кори, паротита и краснухи при сертификационных испытаниях определяют с помощью трудоемкой, длительной и дорогостоящей реакции нейтрализации на культуре клеток. Подлинность вируса в этих вакцинах устанавливают на основании нейтрализации цитопатогенного действия вирусов на чувствительной культуре клеток RK-13 и Vero специфической иммунной сывороткой. Упростить и удешевить контроль подлинности коммерческих серий вакцин для профилактики кори, паротита и краснухи с помощью ПЦР-тестирования представляется перспективной задачей. Целью работы было определение возможности выявления вирусной РНК в указанных вакцинах с помощью наборов реагентов разных производителей, предназначенных для выявления вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР). В статье представлены результаты работы по оценке возможности использования метода ОТ-ПЦР для определения подлинности вирусов кори, паротита и краснухи в вакцинах. Были изучены отечественные и зарубежные наборы реагентов, предназначенные для выявления вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале. Все изучавшиеся наборы реагентов выявляли рибонуклеиновые кислоты (РНК) названных вирусов в вакцинных препаратах. Показана высокая специфичность использовавшихся наборов реагентов и возможность их применения для подтверждения подлинности вирусов кори, паротита и краснухи во всех исследованных вакцинах. Для оценки подлинности вакцин против краснухи методом ОТ-ПЦР могут быть использованы коммерческие отечественные наборы реагентов. Для оценки подлинности вакцин против кори и паротита методом ОТ-ПЦР целесообразна разработка отечественных наборов реагентов. При оценке приемлемости результатов испытаний использовали отраслевые стандартные образцы активности вирусов кори, паротита и краснухи со стабильной аттестованной активностью.

Ключевые слова: ОТ-ПЦР; подлинность вируса в вакцине; вакцина коревая живая; вакцина паротитная живая; вакцина против краснухи живая; диагностические наборы реагентов; отраслевые стандартные образцы

Для цитирования: Бинятова АС, Мыца ЕД, Чертова НВ, Волкова РА, Саркисян КА, Ильясова ТН, Юнасова ТН, Мовсесянц АА, Меркулов ВА. Использование наборов реагентов для ОТ-ПЦР в реальном времени для оценки подлинности вакцин против кори, паротита и краснухи. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(4):249–256. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-249-256>

Контактное лицо: Бинятова Анна Станиславовна; Binyatova@expmed.ru

Using Real-Time RT-PCR Reagent Kits for Identity Testing of Measles, Mumps and Rubella Vaccines

А. S. Binyatova^{1,*}, E. D. Mytsa¹, N. V. Chertova¹, R. A. Volkova¹, K. A. Sarkisyan¹, T. N. Ilyasova¹, T. N. Yunasova¹,
A. A. Movsesyants¹, V. A. Merkulov^{1,2}

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya Street, Moscow 119991, Russian Federation

Currently, the identity of measles, mumps and rubella virus vaccines is determined during certification testing by a labour-consuming, lengthy and costly neutralisation test using cell cultures. The identity of the virus contained in such vaccines is established based on neutralisation of cytopathic effect of viruses in sensitive RK-13 and Vero cell cultures using a specific immune serum. An urgent challenge is to simplify and reduce the cost of controlling the identity of commercial batches of measles, mumps and rubella vaccines using polymerase chain reaction (PCR) tests. The aim of the study was to determine the possibility of viral ribonucleic acid (RNA) detection in these vaccines using reagent kits from different manufacturers for detection of measles, mumps and rubella viruses in clinical material by real-time reverse transcription-PCR (RT-PCR). The article presents the results of the study, which assessed the possibility of using the real-time RT-PCR for testing the identity of measles, mumps and

rubella viruses in vaccines. The authors of the study analysed domestically produced and foreign reagent kits intended for detection of measles, mumps and rubella viruses in clinical material. All the studied reagent kits were able to detect RNAs of the above-mentioned viruses in vaccine products. All the reagent kits demonstrated high specificity and could be used to confirm the identity of the measles, mumps and rubella viruses in all the studied vaccines. Commercial domestic reagent kits can be used to determine the identity of rubella vaccines by RT-PCR. However, it is advisable to develop domestic reagent kits for checking the identity of measles and mumps vaccines by RT-PCR. The acceptability of the test results was assessed using the industry reference standards of measles, mumps and rubella viruses activity with certified stable activity values.

Key words: RT-PCR; identity of viruses in vaccines; live measles vaccine; live mumps vaccine; live rubella vaccine; diagnostic reagent kits; industry reference standards

For citation: Binyatova AS, Mytsa ED, Chertova NV, Volkova RA, Sarkisyan KA, Ilyasova TN, Yunasova TN, Movsesyants AA, Merkulov VA. Using real-time RT-PCR reagent kits for identity testing of measles, mumps and rubella vaccines. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(4):249–256. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-249-256>

Corresponding author: Anna S. Binyatova; Binyatova@expmed.ru

В соответствии с отечественными и международными нормативными документами^{1,2,3} определение подлинности вирусов кори, эпидемического паротита и краснухи в вакцинах проводят в реакции нейтрализации (РН) на культуре клеток на основании нейтрализации цитопатогенного действия вирусов иммунными сыворотками животных. Общеизвестно, что подготовка материалов для проведения испытания подлинности вирусов в вакцине с помощью РН включает в себя также приготовление и аттестацию специфических иммунных сывороток животных, создание посевных банков культур клеток и их ведение, что является трудоемким, затратным и длительным процессом. В среднем опыт по проведению испытания препаратов на подлинность в РН длится 10–12 сут. Метод ПЦР менее трудоемкий и позволяет получить результат в течение 1 рабочего дня.

Некоторые зарубежные производители для подтверждения подлинности вируса в вакцине при контроле готового продукта используют ОТ-ПЦР. Ряд авторов, используя собственные экспериментальные наборы реагентов, показал возможность с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени количественно определять содержание РНК вирусов кори, паротита и краснухи в вирусосодержащих жидкостях [1, 2]. Необходимо отметить, что согласно требованиям международных фармакопей при определении основных показателей качества иммунобиологических препаратов следует по возможности отказываться от использования лабораторных животных и применять методы *in vitro* [3].

Цель работы — определение возможности выявления вирусной РНК в указанных вакцинах с помощью наборов реагентов разных производителей, предназначенных для выявления вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (ОТ-ПЦР).

Материалы и методы

Объектом исследования были коммерческие диагностические наборы отечественного и зарубежного производства для выявления вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале для ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

В работе были использованы следующие наборы реагентов:

1) набор реагентов для выявления РНК вируса краснухи (Rubella virus) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией АмплиСенс® Rubella virus-FL производства

ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (РУ № ФСР 2009/05501) — 2 серии;

2) набор реагентов для выявления РНК вируса краснухи методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени РеалБест РНК Rubella (комплект 1) производства АО «Вектор-Бест» (РУ № РЗН 2016/3704) — 2 серии;

3) набор реагентов для выявления вируса кори — Measles Virus Real Time RT-PCR Kit — в носоглоточных образцах методом ПЦР в реальном времени (Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd, Китай, производство Liferiver) — 1 серия;

4) набор реагентов для выявления вируса паротита — Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit — в носоглоточных образцах методом ПЦР в реальном времени (Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd, Китай, производство Liferiver) — 1 серия;

5) набор реагентов для выявления вируса краснухи — Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit — в носоглоточных образцах методом ПЦР в реальном времени (Shanghai ZJ Bio-Tech Co., Ltd, Китай, производство Liferiver) — 1 серия.

Пробоподготовка. Выделение РНК вирусов кори, паротита и краснухи для последующей работы с набором АмплиСенс® и наборами зарубежного производства проводили с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала РИБО-преп производства ООО «ИнтерЛабСервис» (РУ № ФСР 2008/03147).

Выделение РНК вируса краснухи проводили набором реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) возбудителей инфекций из сыворотки (плазмы) крови РеалБест экстракция 1000 (АО «Вектор-Бест» (РУ № ФСР 2010/06867)) для последующей работы с набором РеалБест РНК Rubella, комплект 1.

С помощью указанных наборов были исследованы образцы коммерческих серий вакцин производства АО «НПО «Микроген» Минздрава России:

- вакцина против краснухи культуральная живая (штамм вируса краснухи RA-27/3) — 10 серий;

- вакцина паротитная культуральная живая (штамм вируса паротита Ленинград-3) — 5 серий;

- вакцина коревая культуральная живая (штамм вируса кори Ленинград-16) — 4 серии;

- вакцина паротитно-коревая культуральная живая (штамм вируса кори Ленинград-16, штамм вируса паротита Ленинград-3) — 2 серии.

¹ Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов: Сорок третий доклад. Серия технических докладов ВОЗ, № 840. Женева: ВОЗ; 1994.

² Фармакопейная статья 3.3.1.0024.15 «Вакцина против краснухи культуральная живая». Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 3, М.; 2015.

³ 04/2010:1057 Measles, Mumps and Rubella Vaccine (Live). European Pharmacopoeia 8.0.

Также были исследованы зарубежные вакцины:

- вакцина ММР II® — вакцина против кори, паротита и краснухи, живая (штамм вируса кори — Эдмонстон, штамм вируса паротита — Дж. Линн (уровень В), штамм вируса краснухи — Вистар RA-27/3) производства Мерк Шарп и Доум Б.В., Нидерланды;

- вакцина Приорикс® — вакцина против кори, паротита и краснухи живая культуральная (штамм вируса кори — Шварц, штамм вируса паротита — RIT 4385, штамм вируса краснухи — Вистар RA-27/3) производства ГлаксоСмитКляйн Байолоджиалз, Бельгия.

В работе были использованы отраслевые стандартные образцы (ОСО):

- ОСО 42-28-426-2013 активности вакцины против краснухи (штамм вируса краснухи RA-27/3);

- ОСО 42-28-348-2016 активности живой паротитной вакцины (штамм вируса паротита Ленинград-3);

- ОСО 42-28-347-2013 активности живой коревой вакцины (штамм вируса кори Ленинград-16);

- стандартный образец предприятия — СОП № 1 активности вируса краснухи (штамм вируса краснухи RA-27/3).

Все указанные вакцины предварительно были исследованы по показателю «Подлинность» в РН на культуре клеток с помощью специфических иммунных сывороток в соответствии с нормативной документацией (НД) на препараты^{4,5,6} и соответствовали требованиям НД.

При проведении исследований с применением метода ПЦР все образцы вакцин испытывали без разведения.

Для амплификации и учета результатов использовали прибор Rotor- Gen 6000 (Corbett Life Science) и CFX96/384 Touch™ (BioRad). Результаты реакции считали достоверными при отсутствии положительного сигнала в отрицательном контрольном образце (ОКО), что свидетельствовало об отсутствии контаминации в исследуемых образцах.

Прибор Rotor-Gene 6000 (Corbett Life Science) использовали при амплификации и учете результатов при использовании китайских наборов и набора АмплиСенс® Rubella virus-FL.

Амплификацию и учет результатов при использовании набора реагентов РеалБест РНК Rubella, комплект 1, проводили на приборе CFX96/384 Touch™ (BioRad).

Статистическая обработка полученных результатов была проведена общепринятыми методами [4], расчеты проведены с помощью программы Microsoft Office Excel 2007.

⁴ Фармакопейная статья предприятия «Вакцина коревая культуральная живая» ЛС-002140-141116.

⁵ Фармакопейная статья предприятия «Вакцина паротитная культуральная живая» Р N000262/01-200217.

⁶ Фармакопейная статья предприятия «Вакцина против краснухи культуральная живая» ЛП-000463-281216.

Результаты и обсуждение

Проведено экспериментальное изучение коммерческих наборов реагентов, предназначенных для выявления РНК вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, для определения подлинности вакцин против кори, паротита и краснухи.

1. Исследование вакцин против краснухи

1. С помощью набора реагентов АмплиСенс® Rubella virus-FL были исследованы 8 серий отечественной вакцины против краснухи (АО «НПО «Микроген»), 2 серии комбинированной вакцины против кори, паротита и краснухи ММР II® и Приорикс®. Одновременно исследовали ОСО 42-28-426-2013 активности вакцины против краснухи и СОП № 1 активности вируса краснухи.

Для подтверждения специфичности метода параллельно с образцами вакцины против краснухи было исследовано по одной серии вакцины против кори и против паротита.

Использовали программу амплификации согласно инструкции по применению набора (табл. 1).

Внутренний контрольный образец (ВКО) добавлялся на этапе выделения во все исследуемые пробы. На рисунке 1 представлены средние значения порогового цикла (Ct) исследованных образцов. Значение Ct в положительном контрольном образце 1 (ПКО 1) составляет 20, что меньше значения 24, указанного как предельная величина во вкладыше к набору реагентов. Значение порогового цикла для ВКО равно 23, что не превышает предельного значения 28, указанного в инструкции к набору.

Как видно на рисунке 1, для большинства исследованных образцов вакцины против краснухи пороговый цикл был меньше 24 и находился в диапазоне от 15 до 20.

Таким образом, положительный сигнал в образцах вакцины с краснушным компонентом показал наличие РНК вируса краснухи в исследуемых образцах.

Одновременно с образцами вакцины против краснухи были исследованы образцы вакцин против кори и паротита, в которых, так же как в отрицательных контрольных образцах, пороговый цикл не определялся, следовательно, специфические участки для отжига праймеров, предназначенных для РНК вируса краснухи, в образцах этих вакцин отсутствовали.

2. С помощью этого набора были исследованы 3 серии отечественной вакцины против краснухи (АО «НПО «Микроген» Минздрава России), 2 серии комбинированной вакцины против

Таблица 1. Программа амплификации набора АмплиСенс® Rubella virus-FL
Table 1. Amplification step using AmpliSens® Rubella virus-FL reagent kit

Этап	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
Удержание температуры	50	15 мин	-	1
Удержание температуры 2	95	15 мин	-	1
Циклирование	95	5 с	-	5
	60	20 с	-	
	72	15 с	-	
Циклирование 2	95	5 с	-	40
	60	20 с	FAM — для ВКО, JOE — для вируса краснухи	
	72	15 с	-	

Примечание. FAM, JOE — каналы детекции результатов амплификации, ВКО — внутренний контрольный образец.

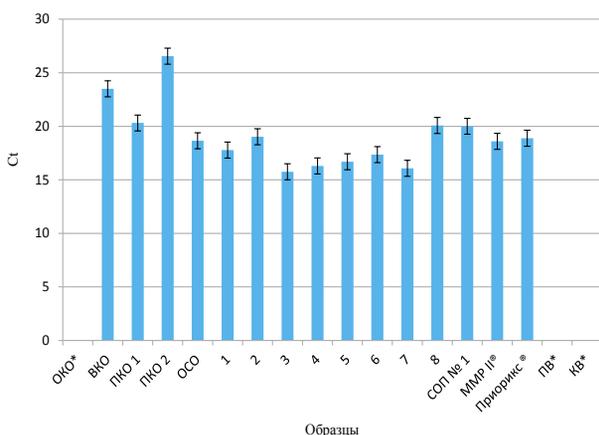


Рис. 1. Среднее значение порогового цикла исследованных образцов при использовании набора реагентов АмплиСенс® Rubella virus-FL: 1–8 — серии вакцины против краснухи; MMP II® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства MSD; Приорикс® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства GSK; СОП № 1 — стандартный образец предприятия активности вируса краснухи; ПВ — паротитная вакцина; KB — коревая вакцина; OKO — отрицательный контрольный образец; ВКО — внутренний контрольный образец; ПКО 1 — положительный контрольный образец на этапе выделения; ПКО 2 — положительный контрольный образец на этапе амплификации; ОСО — отраслевой стандартный образец.

Fig. 1. Average threshold cycle values of the samples tested using AmpliSens Rubella virus-FL reagent kit. 1–8 — rubella vaccine batches; MMP II® — measles, mumps and rubella vaccine produced by MSD; Приорикс® — measles, mumps and rubella vaccine produced by GlaxoSmithKline; СОП № 1 — in-house reference standard of rubella virus activity; ПВ — mumps vaccine; KB — measles vaccine; OKO — negative control sample; ВКО — internal control sample; ПКО 1 — positive control sample at the isolation step; ПКО 2 — positive control sample at the amplification step; ОСО — industry reference standard.

* Пороговый цикл не определяется.

кори, паротита и краснухи MMP II® и Приорикс®, а также образцы ОСО 42-28-426-2013 активности вакцины против краснухи и СОП № 1 активности вируса краснухи.

Для подтверждения специфичности метода параллельно с образцами вакцины против краснухи исследовали по одной серии вакцины против кори и паротита.

Программирование амплификатора проводили в соответствии с инструкцией к набору (табл. 2).

В наборе РеалБест РНК Rubella предусмотрены контрольные образцы — OKO, ПКO, ВКО, необходимые для оценки приемлемости результатов, только на этапе выделения. Значение Ct исследуемых образцов не должно превышать значения порогового цикла, равного 40, указанного в инструкции к набору.

Таблица 2. Программа амплификации набора РеалБест РНК Rubella, комплект 1
Table 2. Amplification step using RealBest RNA Rubella reagent kit, set 1

Этап	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
Удержание температуры	45	30 мин	-	1
Денатурация	94	1 мин	-	1
Денатурация	94	10 с	-	50
Элонгация	60	20 с	FAM — для ВКО, JOE — для РНК вируса краснухи	

Примечание. FAM, JOE — каналы детекции результатов амплификации, ВКО — внутренний контрольный образец.

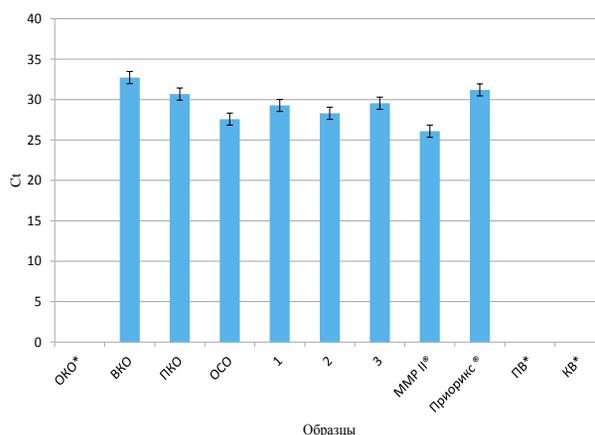


Рис. 2. Средние значения Ct исследованных образцов при использовании набора реагентов «РеалБест РНК Rubella». 1, 2, 3 — серии вакцины против краснухи; MMP II® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства MSD; Приорикс® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства GSK; ПВ — паротитная вакцина; KB — коревая вакцина; OKO — отрицательный контрольный образец; ВКО — внутренний контрольный образец; ПКO — положительный контрольный образец; ОСО — отраслевой стандартный образец.

* Пороговый цикл не определяется.

Fig. 2. Average threshold cycle values of the samples tested using Realbest RNA Rubella reagent kit. 1, 2, 3 — rubella vaccine batches; MMP II® — measles, mumps and rubella vaccine produced by MSD; Приорикс® — measles, mumps and rubella vaccine produced by GlaxoSmithKline; ПВ — mumps vaccine; KB — measles vaccine; OKO — negative control sample; ВКО — internal control sample; ПКO — positive control sample; ОСО — industry reference standard.

* The threshold cycle is not detected.

Отсутствие положительного сигнала в OKO свидетельствует об отсутствии контаминации в исследуемых образцах на этапе выделения. Значение порогового цикла меньше 40 свидетельствует о наличии специфического участка. В ходе эксперимента ВКО добавляли на этапе выделения во все исследуемые пробы, значения порогового цикла для ВКО суммировали и вычисляли среднее значение ($Ct_{ВКО_{cp}}$), исключая из анализа образцы, значения Ct которых отличались больше чем на 2 цикла от $Ct_{ВКО_{cp}}$. На рисунке 2 представлены средние значения Ct исследованных образцов. Полученные результаты соответствовали требованиям инструкции к набору и свидетельствовали о правильности проведения реакции.

Как видно на рисунке 2, для большинства исследуемых образцов Ct находился в диапазоне от 25 до 35, что свидетельствовало о возможности использования набора для выявления РНК вируса краснухи в вакцинах против краснухи.

Параллельно с образцами вакцины против краснухи были исследованы образцы коревой и паротитной вакцин. В образ-

цах вакцин против кори и паротита, так же как в отрицательном контрольном образце, пороговый цикл не определялся.

Таким образом, положительный сигнал в образцах вакцин против краснухи показал наличие РНК искомого вируса в исследуемых образцах и отсутствие его в вакцинах против кори и паротита.

3. Набор реагентов Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit производства Liferiver. С помощью этого набора были исследованы 3 серии отечественной вакцины против краснухи (АО «НПО «Микроген» Минздрава России), 2 серии ММР II® и Приорикс®, и образцы СОС 42-28-426-2013 активности вакцины против краснухи.

Для подтверждения специфичности метода параллельно с образцами вакцины против краснухи исследовали по одной серии вакцины против кори и паротита (табл. 3).

В наборе Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit, так же как и в наборе РеалБест РНК Rubella, предусмотрены контрольные образцы ОК0, ВКО, ПК0, необходимые для оценки приемлемости результатов, только на этапе амплификации. Отсутствие положительного сигнала в отрицательном контрольном образце свидетельствовало об отсутствии контаминации в исследуемых образцах; значение порогового цикла в положительном образце меньше 35 свидетельствовало о наличии специфического участка. Внутренний контрольный образец добавляли на этапе амплификации во все исследуемые пробы, значение порогового цикла для ВКО должно находиться в диапазоне 25–35. Полученные результаты соответствовали требованиям инструкции к набору и свидетельствовали о правильности проведения реакции. На рисунке 3 представлены средние величины значений порогового цикла исследованных образцов.

Как видно на рисунке 3, для всех исследуемых образцов, кроме ПВ и КВ, пороговый цикл находился в диапазоне от 15 до 20.

Одновременно с образцами вакцины против краснухи были исследованы образцы вакцин против кори и паротита, в которых так же, как в отрицательных контрольных образцах, пороговый цикл не определялся, следовательно, специфические участки для отжига праймеров, предназначенных для РНК вируса краснухи, в образцах этих вакцин отсутствовали.

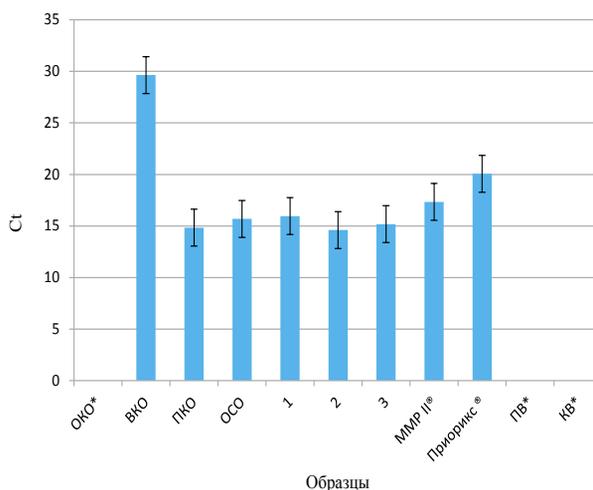


Рис. 3. Средние значения порогового цикла исследованных образцов при использовании набора реагентов Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit: 1, 2, 3 — серии вакцины против краснухи; ММР II® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства MSD; Приорикс® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства GSK; ПВ — паротитная вакцина; КВ — коревая вакцина; ОК0 — отрицательный контрольный образец; ВКО — внутренний контрольный образец; ПК0 — положительный контрольный образец; СОС — отраслевой стандартный образец.

* Пороговый цикл не определяется.

Fig. 3. Average threshold cycle values of the samples tested using Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit. 1, 2, 3 — rubella vaccine batches; ММР II® — measles, mumps and rubella vaccine produced by MSD; Приорикс® — measles, mumps and rubella vaccine produced by GlaxoSmithKline; ПВ — mumps vaccine; КВ — measles vaccine; ОК0 — negative control sample; ВКО — internal control sample; ПК0 — positive control sample; СОС — industry reference standard.

* The threshold cycle is not detected.

Таблица 3. Программа амплификации набора Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit производства Liferiver

Table 3. Amplification step using Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit produced by Liferiver

Этап	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
Удержание температуры	45	10 мин	-	1
Денатурация	95	15 мин	-	1
Денатурация	94	15 с	-	40
Элонгация	60	1 мин	FAM — для ВКО, JOE — для РНК вируса краснухи	

Примечание. FAM, JOE — каналы детекции результатов амплификации, ВКО — внутренний контрольный образец.

Таблица 4. Оценка порогового цикла при исследовании СОС активности вакцины против краснухи наборами реагентов различных производителей

Table 4. Threshold cycle values detected during evaluation of the industry reference standard of rubella vaccine activity using reagent kits by different manufacturers

Статистический показатель оценки порогового цикла	Значение порогового цикла		
	АмплиСенс® Rubella virus-FL	РеалБест РНК Rubella	Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit
Среднее арифметическое значение	18,6 (n = 10)	27,6 (n = 8)	15,7 (n = 5)
Стандартное отклонение	0,10	0,78	0,42
Коэффициент вариации, %	0,53	2,85	2,66

Примечание. n — количество испытаний.

Так же как и отечественные наборы для выявления вируса краснухи в клиническом материале, коммерческий набор производства Liferiver выявляет РНК вируса краснухи в образцах исследованных вакцин с краснушным компонентом.

Для оценки приемлемости результатов идентификации вируса краснухи в исследуемых профилактических препаратах с помощью указанных трех наборов реагентов для ПЦР исследовали образцы ОСО активности вакцины против краснухи (ОСО 42-28-426-2013) с аттестованным значением активности. Результаты представлены в таблице 4.

Из данных, представленных в таблице 4, видно, что применительно к набору реагентов одного производителя стандартное отклонение значения C_t не превышает 1 цикл, что позволяет использовать ОСО 42-28-426-2013 для оценки приемлемости результатов испытаний вакцины против краснухи по показателю «Подлинность».

II. Исследование вакцин против паротита

Отечественных коммерческих наборов для выявления РНК вируса паротита, зарегистрированных в Российской Федерации, нет. В связи с этим в работе использован набор реагентов для выявления РНК вируса паротита в клинических образцах производства Liferiver. С помощью этого набора были исследованы 5 серий отечественной паротитной вакцины.

Набор Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit не отличается по условиям проведения реакции (табл. 3) и компонентам коммерческого набора от Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit. В наборе также предусмотрены контрольные образцы на этапе амплификации. Значение C_t исследуемых образцов не должно превышать значения порогового цикла (C_t — менее 35), указанного во вкладыше к набору, на этапе амплификации. Требования к C_t в ОКО, ПКО и ВКО аналогичны требованиям к контрольным образцам для набора Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit. На рисунке 4 представлены средние величины значений порогового цикла исследованных образцов.

Как видно на рисунке 4, для всех исследуемых образцов пороговый цикл находился в диапазоне от 15 до 20.

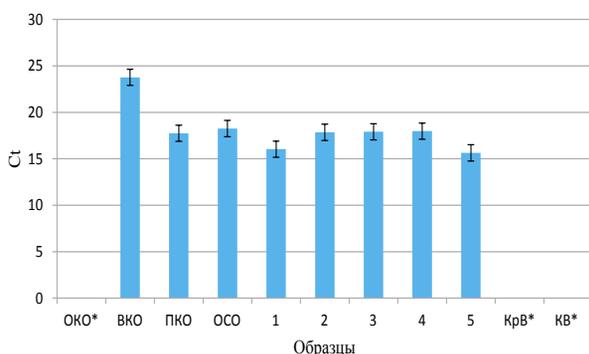


Рис. 4. Средние величины значений порогового цикла исследованных образцов при использовании набора реагентов Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit: 1–5 — серии паротитной вакцины; КрВ — вакцина против краснухи; КВ — коревая вакцина; ОКО — отрицательный контрольный образец; ВКО — внутренний контрольный образец; ПКО — положительный контрольный образец; ОСО — отраслевой стандартный образец.

* Пороговый цикл не определяется.

Fig. 4. Average threshold cycle values of the samples tested using Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit. 1–5 — mumps vaccine batches; КрВ — rubella vaccine; КВ — measles vaccine; ОКО — negative control sample; ВКО — internal control sample; ПКО — positive control sample; ОСО — industry reference standard.

* The threshold cycle is not detected.

Параллельно с образцами вакцины против паротита была проведена амплификация образцов вакцин против краснухи и против кори. В указанных образцах, так же как в отрицательных контрольных образцах, пороговый цикл не определялся, что свидетельствовало о специфичности набора Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit.

Для оценки приемлемости результатов определения вируса паротита в исследуемых профилактических препаратах с помощью указанного набора реагентов исследовали образцы ОСО активности живой паротитной вакцины (ОСО 42-28-348-2016) с аттестованным значением активности. Результаты представлены в таблице 5.

Из данных таблицы 5 видно, что применительно к набору реагентов производителя колебания значения порогового цикла не превышают 1 цикл, что позволяет использовать ОСО 42-28-348-2016 для оценки приемлемости результатов испытаний вакцины против краснухи по показателю «Подлинность».

III. Исследование вакцин против кори

Отечественные коммерческие наборы для выявления РНК вируса кори в клиническом материале в России отсутствуют, поэтому в работе был использован набор реагентов Measles Virus Real Time RT-PCR Kit для выявления РНК вируса кори в клинических образцах производства Liferiver. С помощью этого набора были исследованы 4 серии отечественной коревой вакцины, 2 серии паротитно-коревой вакцины, 2 серии комбинированной вакцины против кори, паротита и краснухи Приорикс® и 1 серия MMP II®.

Набор Measles Virus Real Time RT-PCR Kit не отличается по условиям постановки реакции (табл. 3), компонентам набора и критериям оценки приемлемости результатов от коммерческих наборов Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit и Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit. На рисунке 5 представлены средние величины значений порогового цикла исследованных образцов.

Как видно на рисунке 5, для всех исследуемых образцов пороговый цикл находился в диапазоне от 10 до 20.

Вместе с образцами вакцины против кори были исследованы образцы вакцин против паротита и краснухи. В последних так же, как в отрицательных контрольных образцах, пороговый цикл не определялся. Таким образом, положительный сигнал в образцах вакцин против кори показал наличие РНК искомого вируса в исследуемых образцах и отсутствие его в вакцинах против паротита и краснухи.

Для оценки приемлемости результатов идентификации вируса паротита в исследуемых профилактических препаратах с помощью указанного набора реагентов для ПЦР исследовали образцы ОСО активности живой коревой вакцины (ОСО 42-28-347-2013) с аттестованным значением активности. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 5. Оценка порогового цикла при исследовании ОСО активности живой паротитной вакцины набором реагентов зарубежного производителя

Table 5. Threshold cycle values detected during evaluation of the industry reference standard of live mumps vaccine activity using foreign-made reagent kits

Статистический показатель оценки порогового цикла	Значение порогового цикла
Среднее арифметическое значение	18,2 ($n = 11$)
Стандартное отклонение	0,63
Коэффициент вариации, %	3,49

Примечание. n — количество испытаний.

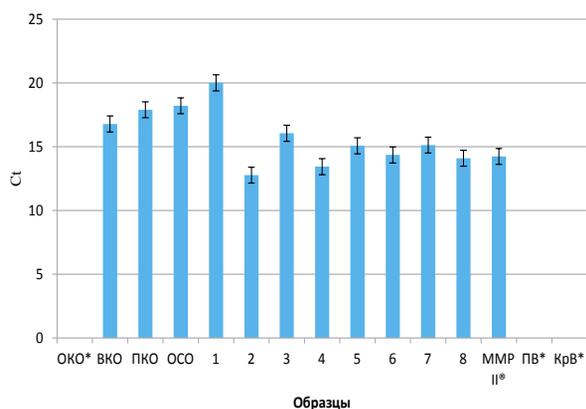


Рис. 5. Средние величины значений порогового цикла исследованных образцов при использовании набора реагентов Measles Virus Real Time RT-PCR Kit: 1–4 — серии коревой вакцины; 5, 6 — серии паротитно-коревой вакцины; 7, 8 — серии комбинированной вакцины против кори, паротита и краснухи Приорикс®; MMR II® — вакцина против кори, паротита и краснухи производства MSD; PB — паротитная вакцина; KpB — вакцина против краснухи; OKO — отрицательный контрольный образец; BKO — внутренний контрольный образец; PKO — положительный контрольный образец; OCO — отраслевой стандартный образец.

* Пороговый цикл не определяется.

Fig. 5. Average threshold cycle values of the samples tested using Measles Virus Real Time RT-PCR Kit. 1–4 — measles vaccine batches; 5, 6 — mumps and measles vaccine batches; 7, 8 — batches of Priorix® combination measles, mumps and rubella vaccine; MMR II® — measles, mumps and rubella vaccine produced by MSD; PB — mumps vaccine; KpB — rubella vaccine; OKO — negative control sample; BKO — internal control sample; PKO — positive control sample; OCO — industry reference standard.

* The threshold cycle is not detected.

Таблица 6. Оценка порогового цикла при исследовании OCO активности живой коревой вакцины набором реагентов зарубежного производителя

Table 6. Threshold cycle values detected during evaluation of the industry reference standard of live measles vaccine activity using foreign-made reagent kits

Статистические показатели оценки порогового цикла	Значение порогового цикла
Среднее арифметическое значение	13,2 (n = 5)
Стандартное отклонение	0,49
Коэффициент вариации, %	3,76

Примечание. n — количество испытаний.

Из данных таблицы 6 видно, что применительно к набору реагентов производителя колебания значения порогового цикла не превышают 1 цикл, что позволяет использовать OCO 42-28-347-2013 для оценки приемлемости результатов испытаний вакцины против краснухи по показателю «Подлинность».

В ходе работы показана возможность выявления нуклеиновых кислот вирусов кори, паротита и краснухи во всех исследованных вакцинах с помощью примененных наборов реагентов.

Диагностические наборы реагентов АмплиСенс® Rubella virus-FL, РеалБест РНК Rubella и Rubella Virus Real Time RT-PCR Kit, предназначенные для выявления РНК вируса краснухи в клиническом материале, были использованы впервые для определения подлинности моно- и ассоциированных вакцин с краснушным компонентом отечественного и зарубежного производства.

Показана специфичность указанных наборов и возможность применения этих наборов для подтверждения подлинности вируса краснухи во всех исследованных вакцинах.

Коммерческие наборы реагентов для диагностики кори и паротита с помощью ОТ-ПЦР отечественного производства отсутствуют. В связи с этим для дальнейшего исследования были взяты наборы производства «Liferiver» для выявления РНК вирусов в клиническом материале. Показано, что изучавшиеся наборы реагентов Measles Virus Real Time RT-PCR Kit и Mumps Virus Real Time RT-PCR Kit позволяют выявлять РНК вирусов кори и паротита в вакцинах.

Для оценки приемлемости результатов идентификации вируса кори, паротита и краснухи в вакцинах с помощью указанных наборов реагентов исследовали неразведенные образцы OCO 42-28-426-2013 активности вакцины против краснухи, OCO 42-28-348-2016 активности живой паротитной вакцины, OCO 42-28-347-2013 активности живой коревой вакцины. При многократном испытании стандартных образцов показана воспроизводимость значений порогового цикла в пределах каждого набора реагентов, что свидетельствует о возможности использования OCO активности вирусов кори, паротита и краснухи для оценки приемлемости результатов при определении подлинности вакцин методом ОТ-ПЦР.

Заключение

1. Все изучавшиеся коммерческие диагностические наборы реагентов для ОТ-ПЦР в режиме реального времени, предназначенные для выявления РНК вирусов кори, паротита и краснухи в клиническом материале, позволяют выявлять РНК указанных вирусов в соответствующих вакцинах.

2. При многократном испытании отраслевых стандартных образцов активности живых коревой, паротитной вакцин и вакцины против краснухи показана возможность их использования для оценки приемлемости результатов определения подлинности вакцин методом ОТ-ПЦР.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-000-23-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-000-23-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

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

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

Литература / References

1. Мовсесянц АА, Бондарев ВП, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Шимчук ЛФ. Стандарты качества иммунобиологических лекарственных препаратов — новое в Государственной фармакопее Российской Федерации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2016;(2):38–41. [Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YV, 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.)]

2. Забияка ЮИ, Файзулоев ЕБ, Борисова ТК, Никонова АА, Зверев ВВ. Экспресс-метод оценки титра вируса краснухи в вирусосодержащей жидкости с помощью ПЦР-РВ. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2010;(5):57–62. [Zabiyaka YI, Faizuloev EB, Borisova TK, Nikonova AA, Zverev VV. Quick Test for Measurement of Rubella Virus Titer in Virus-Containing Fluid Using RT-PCR. *Zhurnal mikrobiologii, ehpideologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2010;(5):57–62 (In Russ.)]
3. Аммури ЮИ, Борисова ТК, Файзулоев ЕБ, Зверев ВВ. Количественное определение вирусов кори, эпидемическо-

го паротита и краснухи в вирусосодержащих жидкостях на основе ПЦР с детекцией в режиме реального времени. В кн.: *Материалы конференций молодых ученых*. Киров: Международный центр научно-исследовательских проектов; 2013. С. 8–26. [Ammur YI, Borisova TK, Faizuloev EB, Zverev VV. The quantitative determination of measles, mumps and rubella in virus-containing fluids by RT-PCR. In: *Materials of conferences of young scientists*. Kirov: International center for research projects; 2013. P. 8–26 (In Russ.)]

4. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1998. [Glantz S. *Primer of Biostatistics*. Moscow: Praktika; 1998 (In Russ.)]

Об авторах

Бинятова Анна Станиславовна, эксперт 2 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3011-2030>

Мыца Елена Дмитриевна, канд. биол. наук, эксперт 1 категории лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1253-0650>

Чертова Наталья Вячеславовна, эксперт 2 категории лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9279-9408>

Волкова Рауза Асхатовна, д-р биол. наук, начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Саркисян Каринэ Арташесовна, канд. мед. наук, начальник лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Ильясова Татьяна Николаевна, эксперт 1 категории лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0905-3630>

Юнаслова Татьяна Николаевна, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1606-942X>

Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, профессор, начальник Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, профессор кафедры фармакологии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 24.05.2018
После доработки 09.11.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Anna S. Binyatova, 2nd Professional Category Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3011-2030>

Elena D. Mytsa, Candidate of Biological Sciences, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Test Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1253-0650>

Natalya V. Chertova, 2nd Professional Category Expert of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Test Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9279-9408>

Rauza A. Volkova, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Test Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Karine A. Sarkisyan, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Tatyana N. Ilyasova, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0905-3630>

Tatyana N. Yunasova, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-1606-942X>

Artashes A. Movsesyants, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-2132-0962>

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy General Director for Medicinal Products Evaluation of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products; Professor of the Department of Pharmacology of I. M. Sechenov First MSU, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Received 24 May 2018
Revised 9 November 2018
Accepted 15 November 2018

Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца содержания полисахарида в вакцине Шигеллвак

В. А. Волков*, М. В. Абрамцева, Т. И. Немировская, В. П. Ковтун, О. В. Фадейкина, Р. А. Волкова

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

В статье представлены материалы по аттестации отраслевого стандартного образца (ОСО) вакцины дизентерийной против шигелл Зонне полисахаридной, торговое наименование «Шигеллвак», предназначенного для оценки стабильности проведения испытаний данного лекарственного препарата по показателю «Специфическая активность», определяемому в реакции торможения пассивной гемагглютинации. Разработана программа аттестации ОСО. Образцы вакцины — кандидата в ОСО были испытаны по показателям: «Описание», «Подлинность», «Извлекаемый объем». Результаты испытаний подтвердили их соответствие требованиям действующей фармакопейной статьи предприятия на вакцину Шигеллвак. Определена аттестуемая характеристика: разведение полисахарида, при котором наблюдается торможение реакции пассивной гемагглютинации в гомологичной системе, должно находиться в диапазоне от 1:128 до 1:512. Утвержден пакет нормативных документов на научно-техническую продукцию ОСО 42-28-386-2017: паспорт, инструкция по применению, макеты этикеток первичной и вторичной упаковок.

Ключевые слова: отраслевой стандартный образец (ОСО); Шигеллвак; вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная; показатели качества; специфическая активность; *Shigella*; шигеллез; реакция торможения пассивной гемагглютинации

Для цитирования: Волков ВА, Абрамцева МВ, Немировская ТИ, Ковтун ВП, Фадейкина ОВ, Волкова РА. Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца содержания полисахарида в вакцине Шигеллвак. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(4):257–261. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-257-261>

Контактное лицо: Волков Виктор Аркадьевич; Volkov@expmed.ru

Certification of a New Batch of the Industry Reference Standard of Polysaccharide Content in Schigellvac Vaccine

V. A. Volkov*, M. V. Abramtseva, T. I. Nemirovskaya, V. P. Kovtun, O. V. Fadeykina, R. A. Volkova

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

The article summarises materials on the certification of the industry reference standard of *Schigella sonnei* polysaccharide dysentery vaccine (commercial name — Schigellvac). The industry reference standard is used to assess the consistency of the vaccine «Specific activity» testing by passive hemagglutination inhibition assay. A certification programme for the industry reference standard was developed. Samples of the candidate vaccine were tested in terms of the following quality characteristics: «Appearance», «Identification», «Extractable Volume». The test results confirmed that the samples comply with the current requirements of the manufacturer's product specification file for Schigellvac vaccine. It was determined that the certification parameter — the polysaccharide dilution ratio which results in inhibition of passive hemagglutination in a homologous system — has to fall in the range from 1:128 to 1:512. The following set of standard documents accompanying a scientific/technological product was approved for the industry reference standard No. 42-28-386-2017: passport, patient information leaflet, mockup labels for primary and secondary packaging.

Key words: industry reference standard; Schigellvac; *Schigella sonnei* polysaccharide dysentery vaccine; quality characteristics; specific activity; *Shigella*; shigellosis; passive hemagglutination inhibition assay

For citation: Volkov VA, Abramtseva MV, Nemirovskaya TI, Kovtun VP, Fadeykina OV, Volkova RA. Certification of a new batch of the industry reference standard of polysaccharide content in Schigellvac vaccine. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(4):257–261. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-257-261>

Corresponding author: Viktor A. Volkov; Volkov@expmed.ru

Шигеллезы — инфекционные заболевания, вызываемые бактериями рода *Shigella*, относятся к числу острых кишечных инфекций. Эпидемиологическая значимость этих инфекций возрастает по всему миру.

Ежегодно в мире регистрируется около 200 млн случаев заболеваний шигеллезами, из которых у 1,1 млн больных заболевание заканчивается летальным исходом. В то же время, согласно приведенным данным, полученным с применением методов математического моделирования, отношение количества случаев заболевания дизентерией, зафиксированных в различных медицинских учреждениях, к количеству незарегистрированных случаев составляет 1:4¹.

Для многих стран мира наибольшую эпидемическую значимость из всего разнообразия возбудителей шигеллеза имеют *Shigella flexneri* и *S. sonnei*.

В последние годы заболеваемость шигеллезом в Российской Федерации остается на достаточно низком уровне. В 2016 г. показатель заболеваемости шигеллезом составил 6,6 на 100 тыс. населения. Сохраняется равный вклад в этиологической структуре заболеваемости *S. sonnei* и *S. flexneri*. По стране процент случаев бактериологически подтвержденной дизентерии в 2016 г. составил 91 %. Тем не менее в таких субъектах Российской Федерации, как Астраханская, Нижегородская, Сахалинская области, Ямало-Ненецкий АО, сохраняется значительное число диагнозов дизентерии, не подтвержденных лабораторными методами.

Наблюдается большое число случаев выявления отдельных клональных типов *S. sonnei*, выделенных от пострадавших в очагах групповой заболеваемости, при этом доказанным является преобладание водного фактора передачи патогенов. Эти данные подтверждают высокий эпидемический потенциал данного возбудителя².

До недавнего времени основным комплексом мер санитарно-гигиенической профилактики шигеллезом являлись мероприятия, обеспечивающие прерывание путей передачи инфекции. Население территорий, ставшее жертвой различного рода стихийных бедствий (наводнения, оползни и другие чрезвычайные ситуации), не может в полной мере быть защищено данными мероприятиями. Разработка и внедрение в практику здравоохранения вакцины против шигелл Зонне позволили существенно уменьшить число пострадавших от инфекции.

Вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная, торговое название «Шигеллвак», была разработана в Российской Федерации и зарегистрирована в 2002 г. Антигенной базой вакцины является высокоочищенный полисахарид. Вакцина обеспечивает образование специфических антител, которые в течение 2–3 недель создают невосприимчивость к инфекции, сохраняющуюся в течение одного года [1].

Вакцина Шигеллвак предназначена для профилактики дизентерии Зонне у взрослых и детей в возрасте от 3 лет. В соответствии с Инструкцией по медицинскому применению, в плановом порядке она рекомендуется для работников инфекционных стационаров, бактериологических лабораторий, предприятий по производству пищевых продуктов, а также для лиц, занятых в сфере общественного питания и коммунального хозяйства. Прививки против шигеллезом включены в Националь-

ный календарь профилактических прививок Российской Федерации по эпидемическим показаниям. Вакцинацию проводят как в период эпидемий, так и при осложнении эпидемической ситуации, например, в случаях крупных аварий на водопроводных и канализационных сетях, стихийных бедствий^{3,4}.

Одним из основных показателей качества вакцин является «Специфическая активность». Согласно утвержденной нормативной документации этот показатель в вакцине Шигеллвак определяется в реакции торможения пассивной гемагглютинации (РТПГА). Специфическая активность препарата подтверждена, если минимальная концентрация вакцины, тормозящая реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) с сывороткой диагностической к шигеллам Зонне, не более 6,25 мкг/мл, при отсутствии эффекта торможения РПГА с сывороткой диагностической к шигеллам Флекснера 1–5 в концентрации менее 25 мкг/мл. Для оценки стабильности проведения испытаний лекарственного препарата Шигеллвак по показателю «Специфическая активность» используют отраслевой стандартный образец (ОСО) содержания полисахарида.

Изготовление и аттестация новой серии ОСО потребовались в связи с окончанием срока годности предыдущей серии отраслевого стандартного образца. В качестве кандидата в ОСО были представлены образцы производственной серии вакцины, приготовленной из полисахарида, извлеченного из культуры *S. sonnei* штамм № 5063 и очищенного ферментативными и физико-химическими методами на предприятии ООО «Гритвак» (Россия).

Цель работы — аттестация новой серии ОСО содержания полисахарида для оценки стабильности проведения испытаний лекарственного препарата Шигеллвак по показателю «Специфическая активность».

В ходе проведенной работы решались следующие задачи:

- оценка качества кандидата в ОСО на основе экспериментальных исследований и паспортных данных;
- проведение испытаний кандидата в ОСО по показателю «Специфическая активность» для установления значения аттестуемой характеристики кандидата в ОСО;
- разработка нормативной документации на научно-техническую продукцию.

Для выполнения поставленных задач, учитывая особенности аттестации стандартных образцов для контроля качества биологических лекарственных средств [2, 3], была разработана Программа аттестации, в которой определены схема и объем проводимых исследований с учетом специфики аттестуемого стандартного образца и отсутствия соответствующего международного стандартного образца [4].

Материалы и методы

Материалы

- кандидат в ОСО: образцы серии вакцины Шигеллвак, соответствующие требованиям нормативной документации (НД) на вакцину, произведенной на предприятии ООО «Гритвак» из очищенного полисахарида, полученного из штамма *Shigella sonnei* № 5063;
- диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный жидкий (ООО «Био-Диагностика», Россия);

¹ Шигеллез у взрослых. Клинические рекомендации. 2016 г. https://medi.ru/klinicheskie-rekomendatsii/shigellez-u-vzroslykh_14262/

² Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году». <http://rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/0b3/gosudarstvennyy-doklad-2016.pdf>

³ Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения «Шигеллвак» (вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная), раствор для внутримышечного введения.

⁴ Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям» (с изменениями и дополнениями) (Приложение № 1. Национальный календарь профилактических прививок; Приложение № 2. Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям).

- сыворотка диагностическая шигеллезная Зонне неадсорбированная сухая (ООО «Био-Диагностика», Россия);
- диагностикум эритроцитарный шигеллезный Флекснера 1–5 антигенный жидкий (ООО «Био-Диагностика», Россия);
- сыворотка диагностическая шигеллезная Флекснера неадсорбированная сухая (ООО «Био-Диагностика», Россия);
- 1 % взвесь формализированных несенсибилизированных эритроцитов барана (ООО «Био-Диагностика», Россия);
- 0,9 % раствор натрия хлорида (ООО «Био-Диагностика», Россия).

Методы

Специфическую активность определяли методом РТПГА в соответствии с НД Р N002660/01-210508 «Шигеллвак» (вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная), раствор для внутримышечного введения.

Показатель «Подлинность» оценивали в реакции преципитации в геле по Оухтерлони, испытания проводили в соответствии с ГФ XIII ФС.3.3.1.0013.15⁵ и НД Р N002660/01-210508 «Шигеллвак» (вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная), раствор для внутримышечного введения.

Показатель «Номинальный объем» определяли в соответствии с ГФ XI⁶, НД Р N002660/01-210508 «Шигеллвак» (вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная), раствор для внутримышечного введения.

Результаты и обсуждение

Проведена лабораторная экспертиза качества образцов производственной серии вакцины Шигеллвак, представленной в качестве кандидата в ОСО содержания полисахарида, по показателям «Описание», «Подлинность», «Специфическая активность», а также «Номинальный объем».

Результаты испытаний по вышеперечисленным показателям и результаты контроля на производстве (паспортные данные) показали, что образцы кандидата в ОСО соответствуют требованиям нормативной документации на вакцину.

Для аттестации стандартного образца в соответствии с программой аттестации новой серии ОСО в отсутствие международного стандартного образца оценивали специфическую активность в образце кандидата в ОСО методом РТПГА двумя операторами, количество повторов составило по 10 для каждого оператора.

Реакция проводилась в два этапа:

- определение рабочего разведения шигеллезных диагностических сывороток в РПГА;
- проведение РТПГА.

Определение рабочего разведения сывороток проводили в соответствии с требованиями утвержденной нормативной документации. Для постановки реакции готовили двукратные разведения сывороток в 0,9 % растворе натрия хлорида в объеме 100 мкл, начиная с разведения сывороток 1:100 (с учетом десятикратного разведения во флаконе) до удвоенного титра, указанного на этикетке флакона данной сыворотки. В каждую из лунок полистиролового круглодонного планшета с разведениями сывороток прибавляли по 25 мкл соответствующего диагностикума. Планшеты выдерживали 1,5–2,0 ч при комнатной температуре.

Обязательные контроли:

- проверка отсутствия спонтанной агглютинации диагностикума, для чего в 2 лунки планшета, содержащие по 50 мкл 0,9 % раствора натрия хлорида, добавляли по 25 мкл диагностикума;

- проверка на отсутствие в испытуемой сыворотке агглютининов к эритроцитам барана, для чего в 2 лунки планшета вносили по 50 мкл сыворотки в разведении 1:10 и добавляли по 25 мкл 1 % взвеси несенсибилизированных формализированных эритроцитов барана (контрольные эритроциты).

Учет результатов по определению рабочих разведений сывороток проводили по четырехкестной системе:

++++ — все эритроциты агглютинированы и равномерно покрывают дно лунки;

+++ — агглютинированы почти все эритроциты, на их фоне малозаметное кольцо из осевших неагглютинированных эритроцитов — «зонтик»;

++ — наряду с равномерным агглютинатом на дне лунки имеется осадок в виде незначительного по размеру «колечка» или «пуговки».

+ — осадок в центре лунки в виде «пуговки».

Титром антител испытуемой сыворотки считается последнее разведение сыворотки, которое дает ярко выраженную агглютинацию эритроцитов и может быть оценено не менее чем на +++.

Рабочим считается разведение на четыре разведения концентрированное, чем диагностируемый титр антител.

Установленное рабочее разведение сыворотки диагностической шигеллезной Зонне, используемой в работе, составило 1:800.

Установленное рабочее разведение сыворотки диагностической шигеллезной Флекснера, используемой в работе, составило 1:800.

Для постановки РТПГА в полистироловых планшетах готовили двукратные разведения кандидата в ОСО в 0,9 % растворе натрия хлорида в объеме 50 мкл, начиная со 100 до 0,049 мкг/мл. В каждую лунку полистиролового планшета добавляли рабочее разведение сывороток в объеме 25 мкл, затем в каждую лунку — по 25 мкл диагностикума. Планшеты встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 2 ч.

В качестве положительного ответа учитывали ярко выраженный осадок неагглютинированных эритроцитов, который может быть оценен не менее чем на +++.

Данные, полученные во всех 20 испытаниях, показали высокую воспроизводимость результатов и соответствие требованиям, предъявляемым к вакцине Шигеллвак (табл. 1). В гетерологической системе торможение РПГА отсутствовало, что свидетельствует о специфичности реакции. В соответствии с принципами статистической обработки результатов испытаний стандартных образцов биологических лекарственных средств [4] среднее значение специфической активности приняли равным медиане результатов испытаний кандидата в ОСО в РТПГА, которое составило 1:256 и соответствовало концентрации полисахарида 0,391 мкг/мл. Поскольку стандартный образец предназначен для оценки стабильности результатов испытаний, аттестованным значением является интервал, в котором находится разведение вакцины (кандидата в ОСО), при котором наблюдалось торможение РПГА в гомологической системе. Разведение вакцины (кандидата в ОСО), при котором наблюдалось торможение РПГА в гомологической системе, находилось в диапазоне от 1:128 до 1:512, что согласуется с общепринятыми допустимыми колебаниями результатов серологических методик, составляющих ± 1 разведение от среднего значения. Полученный интервал соответствует диапазону концентрации полисахарида от 0,782 до 0,196 мкг/мл. Таким образом, значением аттестованной характеристики кандидата в ОСО является интервал от 1:128 до 1:512.

⁵ Фармакопейная статья 3.3.1.0013.15 «Вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная». Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 3; М.: 2015.

⁶ Государственная фармакопея СССР. XI изд. Вып. 2. М.: Медицина; 1989.

Таблица 1. Результаты определения аттестуемой характеристики кандидата в ОСО содержания полисахарида методом РТПГА

Table 1. Passive hemagglutination inhibition test results for the candidate vaccine to be used as the industry reference standard of polysaccharide content

Номер планшета	Номер ампулы препарата	Разведение кандидата в ОСО	Концентрация полисахарида, мкг/мл
		Оператор 1	
1	1	1:256	0,391
	2	1:256	0,391
	3	1:256	0,391
	4	1:128	0,782
	5	1:256	0,391
	6	1:256	0,391
	7	1:256	0,391
	8	1:256	0,391
	9	1:256	0,391
	10	1:256	0,391
Оператор 2			
2	11	1:256	0,391
	12	1:256	0,391
	13	1:256	0,391
	14	1:256	0,391
	15	1:256	0,391
	16	1:256	0,391
	17	1:256	0,391
	18	1:512	0,196
	19	1:256	0,391
	20	1:256	0,391

Срок годности серии ОСО 42-28-386-2017 составляет 2 года с учетом требований НД на вакцину и опыта применения предыдущих серий ОСО с 2006 г. и обязательным мониторингом стабильности.

Полученные результаты позволили разработать и утвердить комплект нормативной документации, а именно: паспорт на научно-техническую продукцию (ОСО 42-28-386-2017), инструкцию по применению, макеты этикеток первичной и вторичной упаковок.

Выводы

1. Образцы кандидата в ОСО соответствуют требованиям НД Р N002660/01-210508 «Шигеллвак» (вакцина дизентерийная против шигелл Зонне полисахаридная), раствор для внутримышечного введения.

2. Проведена аттестация новой серии ОСО содержания полисахарида в вакцине Шигеллвак для оценки стабильности проведения испытаний лекарственного препарата Шигеллвак по показателю «Специфическая активность». По результатам исследований определено значение аттестованной характеристики: разведение полисахарида, при котором наблюдается тормозящий эффект РТПГА в гомологичной системе, находится в диапазоне от 1:128 до 1:512, что соответствует диапазону концентрации полисахарида от 0,782 до 0,196 мкг/мл при отсутствии тормозящего эффекта в гетерологичной системе при концентрации полисахарида 25 мкг/мл. Срок годности серии ОСО 42-28-386-2017 состав-

ляет 2 года с учетом требований НД на вакцину и опыта применения предыдущих серий ОСО с 2006 г. и обязательным мониторингом стабильности.

3. Разработан и утвержден пакет нормативной документации на научно-техническую продукцию ОСО 42-28-386-2017 (паспорт, инструкция по применению, макеты этикеток первичной и вторичной упаковок).

Благодарности. Авторы выражают свою признательность коллективу сотрудников ООО «Гритвак», в частности генеральному директору П.Г. Апарину и заместителю начальника отдела контроля качества Ю.О. Сергееву, за любезно предоставленные результаты мониторинга стабильности стандартного образца содержания полисахарида в вакцине Шигеллвак. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-000-23-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The authors express their gratitude to the staff of ООО «Gritvac», in particular to the Director-General P.G. Aparin and the Deputy Head of the Quality Control Division Yu.O. Sergeev, for their kind consent to share the results of monitoring the stability of the industry reference standard of polysaccharide content in Schigellvac vaccine. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-000-23-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

Информация об отсутствии конфликта интересов.

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

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

Литература / References

1. Апарин ПГ, Каира АН, Клиндухов ВП, Гречаная ТВ, Соломай ТВ, Анкундинов ИВ и др. Заболеваемость шигеллезом в Российской Федерации в 2012–2013 гг. и вакцинопрофилактика дизентерии Зонне на территориях, пострадавших от наводнения. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2014;24:84–7. [Aparin PG, Kaira AN, Klindoukhov VP, Gretchanaya TV, Solomay TV, Ankoundinov IV, et al. The schigellosis morbidity in the Russian Federation during the years 2012–2013 and the prophylactics of Sonne dysentery in the territories after flood disaster. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii = Far-East Journal of Infection Pathology.* 2014;24:84–7 (In Russ.)]
2. Волкова РА, Фадейкина ОВ. Проблемы оценки неопределенности методик испытаний и стандартных образцов иммунобиологических лекарственных средств. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.*

- 2017;17(1):27–31. [Volkova RA, Fadeikina OV. Estimation of uncertainty of test methods and reference standards used for immunobiological medicines. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2017;17(1):27–31 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2017-17-1-27-31>
3. Бондарев ВП, Борисевич ИВ, Волкова РА, Фадейкина ОВ. Проблемы аттестации отраслевых стандартных образцов для контроля качества иммунобиологических лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2013;(2):28–32. [Bondarev VP, Borisevich IV, Volkova RA, Fadeikina OV. The problems concerning the assessment of the quality of the standard samples of the immunobiological preparations. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2013;(2):28–32 (In Russ.)]
4. Фадейкина ОВ, Волкова РА. Разработка порядка аттестации стандартных образцов биологических лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал.* 2017;51(8):44–50. [Fadeikina OV, Volkova RA. Elaboration of certification procedures for reference standards of biological drugs. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2017;51(8):716–21 (In Russ.)]

Об авторах

Волков Виктор Аркадьевич, эксперт 1 категории лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8055-5369>

Абрамцева Марина Витальевна, главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0714-1303>

Немировская Татьяна Ивановна, канд. мед. наук, начальник лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0848-7306>

Ковтун Валентина Петровна, канд. мед. наук, главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8547-6977>

Фадейкина Ольга Васильевна, канд. биол. наук, главный технолог Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8473-7442>

Волкова Рауза Асхатовна, д-р биол. наук, начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Authors

Viktor A. Volkov, 1st Professional Category Expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8055-5369>

Marina V. Abramtseva, Chief Expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-0714-1303>

Tatiana I. Nemirovskaya, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0848-7306>

Valentina P. Kovtun, Candidate of Medical Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8547-6977>

Olga V. Fadeykina, Candidate of Biological Sciences, Chief Technologist of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8473-7442>

Rauza A. Volkova, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Testing Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Поступила 15.06.2018
После доработки 15.11.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Received 15 June 2018
Revised 15 November 2018
Accepted 15 November 2018

Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца для контроля специфической активности и термостабильности вакцины чумной живой

И. В. Касина*, С. А. Алексеева, О. В. Фадейкина, Т. И. Немировская, Р. А. Волкова

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

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (XIII издание, том III) на вакцину чумную живую при проведении испытания специфической активности и термостабильности производственных серий необходимо использование стандартного образца для оценки стабильности и приемлемости полученных результатов. Так как Международный стандартный образец вакцины чумной отсутствует, то аттестация новой серии отраслевого стандартного образца (ОСО) вакцины чумной живой для контроля специфической активности и термостабильности производственных серий вакцины необходима и актуальна. Для этого разработали программу аттестации, установив в ней схему и объем проводимых исследований для получения статистически значимых результатов. В качестве кандидата в ОСО использовали производственную серию препарата, удовлетворяющую требованиям нормативной документации на вакцину чумную живую. Аттестуемыми характеристиками являются: «Специфическая активность: концентрация микробных клеток», «Специфическая активность: процент живых микробных клеток» и «Термостабильность». В статье представлены результаты аттестации и статистически обработанные результаты испытаний по показателям: «Средняя масса и однородность по массе», «Потеря в массе при высушивании» новой серии ОСО вакцины чумной живой. Приведены результаты исследования по показателю «Специфическая активность: иммуногенность». Итоги применения предыдущей серии ОСО вакцины чумной живой (ОСО 42-28-392-2013) и мониторинга стабильности ее аттестованных характеристик показали возможность увеличения срока годности ОСО на 6 месяцев по отношению к установленному (с 2 до 2,5 лет). Все аттестованные и дополнительные характеристики утверждены в документах на научно-техническую продукцию ОСО 42-28-392-2017 вакцины чумной живой: паспорт, макеты этикеток упаковок и инструкция по применению.

Ключевые слова: отраслевой стандартный образец (ОСО); вакцина чумная живая; специфическая активность; концентрация микробных клеток; процент живых микробных клеток; иммуногенность; термостабильность

Для цитирования: Касина ИВ, Алексеева СА, Фадейкина ОВ, Немировская ТИ, Волкова РА. Аттестация новой серии отраслевого стандартного образца для контроля специфической активности и термостабильности вакцины чумной живой. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(4):262–267. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-262-267>

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

Certification of a New Batch of the Industry Reference Standard for the Control of Specific Activity and Thermal Stability of Live Plague Vaccine

I. V. Kasina*, S. A. Alekseeva, O. V. Fadeykina, T. I. Nemirovskaya, R. A. Volkova

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

In accordance with the State Pharmacopoeia (SPH) requirements for live plague vaccine, a reference standard has to be used when testing the specific activity and thermal stability of plague vaccine commercial batches in order to assess the consistency and acceptability of the test results. Since there is no international reference standard for plague vaccine, the certification of a new batch of the industry reference standard (IRS) of live plague vaccine in terms of the above-mentioned quality parameters is an urgent challenge. Therefore, a certification programme for the industry reference standard was developed that establishes the design and scope of testing required to obtain statistically significant results. A candidate IRS was represented by a commercial batch of the product meeting the specification requirements for live plague vaccine. The certification parameters were: «Specific activity: microbial cell concentration», «Specific activity: live microbial cell percentage» and «Thermal stability». The article presents the results of the certification of a new batch of the live plague vaccine IRS, detailed evaluation of the candidate IRS in terms of: «Average weight and uniformity of weight», «Loss on drying», and statistical interpretation of the test results. It also summarises the results of the product testing in terms of «Specific activity: immunogenicity». The results of application of the previous batch of the live plague vaccine IRS (ОСО 42-28-392-2013) and the results of monitoring the stability of its certification parameters demonstrated that the IRS shelf life could be extended by 6 months relative to the established period (from 2 to 2.5 years). All the certified

and additional characteristics are reflected in the official documents for the scientific/technological product — live plague vaccine IRS, OSO 42-28-392-2017: passport, labelling and patient information leaflet.

Key words: industry reference standard (IRS); live plague vaccine; specific activity; microbial cell concentration; live microbial cell percentage; immunogenicity; thermal stability

For citation: Kasina IV, Alekseeva SA, Fadeykina OV, Nemirovskaya TI, Volkova RA. Certification of a new batch of the industry reference standard for the control of specific activity and thermal stability of live plague vaccine. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(4):262–267. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-4-262-267>

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

При изготовлении и экспертизе иммунобиологических лекарственных препаратов необходимым средством обеспечения их качества является применение отраслевого стандартного образца (ОСО) [1–4].

На территории Российской Федерации находятся 11 природных очагов чумы с периодической эпизоотической активностью, поэтому существует постоянная угроза инфицирования людей возбудителем чумы [5]. В связи с этим необходимо проведение вакцинации населения против чумы по эпидемическим показателям. Для создания специфического иммунитета против чумы применяется вакцина чумная живая. Продолжительность специфического иммунитета после вакцинации составляет до 1 года¹. Поскольку вакцина чумная живая не зарегистрирована за рубежом, международного стандартного образца чумной вакцины не существует.

По требованиям нормативной документации (НД) оценку показателей качества специфической активности и термостабильности производственных серий чумной вакцины проводят одновременно с испытанием стандартного образца, предназначенного для оценки стабильности аналитической работы и приемлемости результатов проведения испытаний производственных серий препарата по показателям: «Специфическая активность: концентрация микробных клеток», «Специфическая активность: процент живых микробных клеток» и «Термостабильность».

Цель работы — аттестация новой серии отраслевого стандартного образца для контроля специфической активности и термостабильности производственных серий чумной вакцины.

Для решения этой цели были поставлены следующие задачи.

1. Изучение кандидата в ОСО по показателям спецификации на вакцину чумную живую.
2. Определение значения аттестуемых характеристик: «Специфическая активность: концентрация микробных клеток», «Специфическая активность: процент живых микробных клеток» и «Термостабильность».
3. Изучение стабильности серии № 9 ОСО 42-28-392-2013 вакцины чумной живой.

Для выполнения этих задач разработали программу аттестации, установив в ней схему и объем проводимых исследований. Для получения статистически значимых результатов аттестуемых характеристик увеличили количество операторов и повторных испытаний.

Так как чумная вакцина состоит из живой культуры вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИ-ЭГ, лиофилизированного в стабилизирующей среде, то специфическая активность, обусловленная общей концентрацией микробных клеток и процентом живых микробных клеток от их общей концентрации, является одним из важных показателей при оценке качества препарата. По результатам испытания данного показателя определяют количество накожных, внутри-

кожных и ингаляционных доз для введения людям, обеспечивающих иммуногенные свойства чумной вакцины.

Неопределенность значения аттестованных характеристик «Специфическая активность» и «Термостабильность» оценивали в соответствии с современными требованиями к стандартным образцам².

Определение специфической активности чумной вакцины проводится биологическими методами, неопределенность которых, как известно из опыта аттестации стандартных образцов иммунобиологических препаратов, достигает 50 % и более [6], поэтому для обеспечения объективной оценки значений аттестуемых характеристик аттестацию проводили с участием двух операторов.

Материалы и методы

В качестве кандидата в ОСО вакцины чумной живой (далее — кандидат в ОСО) ФКУЗ Ставропольским противочумным институтом Роспотребнадзора была представлена производственная серия № 2-16. Серия соответствовала требованиям действующей НД на вакцину чумную живую по всем регламентируемым показателям качества.

Исследование показателей специфической активности: концентрации микробных клеток и процента живых микробных клеток было проведено двумя операторами. Один оператор исследовал 7 образцов, другой — 8 образцов (всего 15 образцов) кандидата в ОСО.

Концентрацию микробных клеток (ОК) в образце кандидата в ОСО сначала определяли визуально по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85-2017 (10 МЕ), затем рассчитывали по формуле, указанной в НД¹.

В испытании кандидата в ОСО применяли питательную среду — агар Хоттингера, pH 7,2, с добавлением 1 % гемолизированной крови лошади.

Количество живых микробных клеток в процентном отношении от ОК в кандидате в ОСО рассчитывали в образце вакцины (образец — 1 ампула). Для этого из микробных взвесей образцов кандидата в ОСО, разведенных до концентрации 10^{-7} и 10^{-8} , высевали по 0,1 мл на 2 чашки Петри с агаром.

Концентрацию живых микробных клеток (БК) в 1 мл кандидата в ОСО вакцины рассчитывали по формуле:

$$БК = n \cdot p \cdot 10,$$

где: n — среднее арифметическое количество выросших колоний из разведения;

p — степень разведения препарата (10^7 или 10^8);

10 — коэффициент пересчета на 1 мл пробы (для контроля используют 0,1 мл вакцины).

Затем вычисляли среднее количество живых микробных клеток из двух разведений. Количество живых микробных клеток (ж.м.к.), выраженное в процентах от ОК, рассчитывали по формуле: % ж.м.к. = БК/ОК · 100.

¹ Фармакопейная статья 3.3.1.0022.15 «Вакцина чумная живая». Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 3. М.: 2015.

² ISO Guide 35:2006 Reference Material — General and statistical principles for certification. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:guide:35:ed-3:v1:en>

Исследование кандидата в ОСО по показателю «Термостабильность» после хранения образцов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 14 сут проводили по методике испытания «Специфическая активность (процент живых клеток)» двумя операторами. Каждый оператор проводил оценку пяти образцов. Для аттестации данного показателя было использовано 10 ампул кандидата в ОСО. Термостабильность (в количестве суток) рассчитывали по формуле, указанной в НД¹.

Значение неопределенности (u) полученных аттестованных характеристик ОСО рассчитывали по формуле $u = 2S$, где S — стандартное отклонение результатов определения значения специфической активности и термостабильности [7]. Значения аттестованных характеристик представляли в виде: A (аттестованное значение) $\pm u$ (неопределенность).

Расчет среднеарифметического значения и среднеквадратического (стандартного) отклонения выполнен с помощью программы Microsoft Office Excel.

Результаты и обсуждение

Серия препарата вакцины чумной живой, выбранная в качестве кандидата в ОСО, соответствовала предъявляемым требованиям НД по всем регламентируемым показателям качества (табл. 1). Были проверены такие показатели качества, как «Потеря в массе при высушивании» и «Средняя масса и однородность по массе», устойчивые результаты которых необходимы для подтверждения стабильных свойств кандидата в ОСО. Средняя масса препарата в ампулах составила 126,7 мг при коэффициенте вариации массы всего 0,9 %, при норме не

более 5 %, что свидетельствует о высокой точности розлива вакцины. Величина показателя кандидата в ОСО «Потеря в массе при высушивании» при норме не более 4 % составила $1,4 \pm 0,13$ %. Полученные результаты испытаний по вышеуказанным показателям представлены в таблице 1.

При аттестации кандидата в ОСО по показателю «Специфическая активность» проводили оценку неопределенности полученных результатов.

Аттестованное значение (среднее арифметическое \pm неопределенность) концентрации микробных клеток составило $(5,6 \pm 0,4) \cdot 10^{10}$ м.к./мл (стандартное отклонение — 0,2 м.к./мл). Несмотря на то что метод определения концентрации — визуальный и осуществляется путем сравнения с ОСО мутности бактериальных взвесей, коэффициент вариации концентрации микробных клеток в испытуемых образцах не превысил 5 % (табл. 2).

Результат контроля ростовых свойств питательной среды показал, что агар Хоттингера соответствует требованиям НД. При посеве 10 м.к. наблюдался рост единичных колоний (от 6 до 8) вакцинного штамма *Y. pestis* EV.

В таблице 2 представлены результаты изучения кандидата в ОСО по показателю «Специфическая активность: процент живых микробных клеток». Аттестованное значение количества ж.м.к. в процентах от общей концентрации микробных клеток составляло 34,7 %, что отвечает требованиям НД на вакцину (не менее 25 %), при этом стандартное отклонение равно 4,57 %. Соответственно, в 1 мл кандидата в ОСО содержится $(1,9 \pm 0,5) \cdot 10^{10}$ ж.м.к. Коэффициент вариации составил 9,1 %, что свидетельствует о высокой точности розлива вакцины.

Таблица 1. Результаты определения биологических и физико-химических показателей кандидата в ОСО вакцины чумной живой
Table 1. The results of biological and physico-chemical testing of the candidate live plague vaccine IRS

Наименование показателей (с указанием метода)	Требования НД	Результаты испытания
Описание (визуальный)	Пористая масса серовато-белого цвета	Пористая масса серовато-белого цвета
Подлинность (иммунофлуоресцентный)	Вакцина должна содержать чистую культуру чумного микроба	Вакцина содержит чистую культуру чумного микроба
Время растворения (визуальный)	В течение 3 мин. Растворенный препарат — гомогенная взвесь серовато-белого цвета без посторонних примесей и хлопьев	В течение 2 мин. Растворенный препарат — гомогенная взвесь серовато-белого цвета без посторонних примесей и хлопьев
pH (потенциометрический)	От 7,0 до 7,8	7,5
Размер частиц	Суспензия должна свободно проходить в шприц через иглу № 0840	Суспензия свободно проходит в шприц через иглу № 0840
Время седиментационной устойчивости	Не менее 5 мин	Суспензия не расслаивается в течение 5 мин
Потеря в массе при высушивании	Не более 4 %	$1,4 \pm 0,13$
Вакуум, герметизация	Ампулы должны быть герметичны	Ампулы герметичны
Средняя масса и однородность по массе	Коэффициент вариации массы вакцины в ампулах должен быть не более 5 %	$(126,7 \pm 1,1)$ мг 0,9 %
Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (бактериологический)	Не должна содержать посторонних микроорганизмов и грибов	Не содержит посторонних микроорганизмов и грибов
Специфическая безопасность (биологический)	Вакцина должна быть безопасной	Вакцина безопасна
Специфическая активность: иммуногенность (биологический)*	ED_{50} не должна превышать для морских свинок $1 \cdot 10^4$, для белых мышей — $4 \cdot 10^4$ живых микробных клеток	ED_{50} для морских свинок — 7263 ж.м.к. ED_{50} для белых мышей — 19640 ж.м.к.

* Значения приведены из паспортных данных на серию.

Таблица 2. Результаты испытания кандидата в ОСО вакцины чумной живой по показателю «Специфическая активность (концентрация микробных клеток и процент живых микробных клеток)»

Table 2. The results of the candidate live plague vaccine IRS testing in terms of «Specific activity (microbial cell concentration and live microbial cell percentage)»

Фактор промежуточной прецизионности	Специфическая активность					
	Концентрация, $X \cdot 10^{10}$ м.к./мл			Процент живых микробных клеток, %		
	$\bar{X}_{оп}$	$X_{cp} \pm S$ $n = 15$	норма	$\bar{X}_{оп}$	$X_{cp} \pm S$ $n = 15$	норма
Оператор 1 $n = 8$	5,4	$5,6 \pm 0,2$	От $5 \cdot 10^{10}$ до $1 \cdot 10^{11}$	37	$34,71 \pm 4,57$	Не менее 25 %
	5,4			39		
	5,4			39		
	5,4			34		
	5,4			29		
	5,6			35		
	5,6			29		
	5,6			28		
Оператор 2 $n = 7$	5,5			36		
	5,8			38		
	5,9			38		
	5,6			34		
	5,6			26		
	6,1			39		
	5,6			40		

Примечание. $\bar{X}_{оп}$ — значение показателя, полученное каждым оператором; X_{cp} — среднее значение показателя по объединенной выборке; S — стандартное отклонение результатов испытаний.

Таблица 3. Результаты аттестации кандидата в ОСО вакцины чумной живой по показателю «Термостабильность»

Table 3. The results of the candidate live plague vaccine IRS testing in terms of «Thermal stability»

Номер образца и шифр оператора	Концентрация микробных клеток после хранения при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут	Среднее количество живых микробных клеток после хранения при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут	Процент живых микробных клеток после хранения при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут	Среднее количество живых микробных клеток (первоначальное)	Термостабильность, сут*
1А	$5,9 \cdot 10^{10}$	$1,0 \cdot 10^{10}$	17,37	$(1,94 \pm 0,27) \cdot 10^{10}$	15,1
2А	$5,6 \cdot 10^{10}$	$8,6 \cdot 10^9$	15,36		11,9
3А	$5,6 \cdot 10^{10}$	$1,0 \cdot 10^{10}$	19,20		16,4
4А	$5,8 \cdot 10^{10}$	$9,6 \cdot 10^9$	16,55		13,7
5А	$5,6 \cdot 10^{10}$	$7,6 \cdot 10^9$	13,53		10,3
1Б	$5,6 \cdot 10^{10}$	$9,5 \cdot 10^9$	16,96		13,5
2Б	$5,9 \cdot 10^{10}$	$1,1 \cdot 10^{10}$	18,26		16,5
3Б	$5,3 \cdot 10^{10}$	$8,2 \cdot 10^9$	15,47		11,2
4Б	$5,5 \cdot 10^{10}$	$1,0 \cdot 10^{10}$	18,18		14,5
5Б	$6,0 \cdot 10^{10}$	$1,0 \cdot 10^{10}$	16,71		14,7

Примечание. 1А–5А — оператор 1; 1Б–5Б — оператор 2. Результат определения среднего количества живых микробных клеток после хранения при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут — $(9,5 \pm 2,1) \cdot 10^9$ ж.м.к. Среднее значение термостабильности — $(13,8 \pm 4,2)$ сут.

* Норма: не менее 4 сут.

что не превышает допустимые колебания (не более 20 %) количества ж.м.к.¹

Показатель «Термостабильность» определяется как срок хранения образцов вакцины при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 14 сут, при котором сохраняется 50 % ж.м.к. от их первоначального количества¹. В соответствии с требованиями НД этот показатель должен составлять не менее 4 сут. «Термостабильность» кандидата в ОСО составила от 8,1 до 19,3 сут (в среднем — 13,8 сут, стандартное отклонение — 2,1) (табл. 3).

В связи с тем что в соответствии с НД испытанию по показателю «Специфическая активность (иммуногенность)» чумной вакцины подлежит каждая пятая выпущенная серия, кандидат в ОСО должен быть изучен и по этому показателю. Испытание кандидата в ОСО по показателю «Иммуногенность» было проведено производителем вакцины на морских свинках и белых мышах. Установлено, что иммунизирующая доза вакцины для морских свинок, обеспечивающая 50 % выживание животных (ED_{50}), после заражения 200 Dcl (Dosis certa

Таблица 4. Сводная таблица результатов применения и мониторинга стабильности ОСО 42-28-392-2013 вакцины чумной живой серии № 9 по аттестованным показателям

Table 4. The summary table showing the results of monitoring the stability of the certification parameters of the 9th batch of the live plague vaccine IRS, OSO 42-28-392-2013

Аттестованные характеристики	Паспортные данные ОСО 42-28-392-2013	Значение аттестованных характеристик серии № 9 (ОСО 42-28-392-2013)				
		применение при испытании производственных серий вакцины чумной живой			мониторинг стабильности	
		2014	2014	2015	испытание в конце срока годности, 2016	испытание через 6 мес после окончания срока годности, 2016
Концентрация микробных клеток по ОСО мутности, $\cdot 10^{10}$ м.к./мл	$6,6 \pm 0,5$	6,9	6,1	6,5	6,5	6,1
Процент живых микробных клеток, %	$45,5 \pm 14,0$	59	53	55	46	40
Термостабильность, сут	$21,5 \pm 5,6$	16	16	16	17	16

letalis = LD₁₀₀) вирулентного штамма *Y. pestis* 231 составила 7263 ж.м.к. (при норме не более $1 \cdot 10^4$ ж.м.к.), а ЕД₅₀ для белых мышей — 19 640 ж.м.к. (при норме не более $4 \cdot 10^4$ ж.м.к.). Все контрольные животные погибли от чумы в срок до 10 сут после заражения 1 DCl вирулентного штамма *Y. pestis* 231. Результаты испытания по показателю «Иммуногенность» отражены в качестве дополнительной характеристики в паспорте на ОСО.

В результате проведенных исследований установлены аттестуемые значения ОСО вакцины чумной живой: «Специфическая активность: концентрация микробных клеток» — $5,6 \pm 0,4 \cdot 10^{10}$ м.к./мл, «Специфическая активность: процент живых микробных клеток» — $34,7 \pm 9,1$ % и «Термостабильность» — $13,8 \pm 4,2$ сут.

В таблице 4 представлены результаты применения и мониторинга стабильности ОСО 42-28-392-2013 вакцины чумной живой по аттестованным характеристикам в течение и в конце срока годности, а также через полгода после истечения срока годности. Из этих данных следует, что значение всех аттестованных характеристик ОСО оставалось в пределах установленного при аттестации интервала (табл. 4). Концентрация микробных клеток составила в среднем $6,5 \cdot 10^{10}$ м.к./мл, процент живых микробных клеток — 54 %, «Термостабильность» также находилась в пределе установленного интервала — в среднем 16 сут. Приведенные данные свидетельствуют о стандартности и стабильности ОСО 42-28-392-2013 вакцины чумной живой. Анализ результатов оценки активности кандидата в ОСО, а также опыт применения ОСО 42-28-392-2013 позволил установить срок годности ОСО 42-28-392-2017 серии № 10 до 8 октября 2019 г., т. е. увеличить на 6 мес по сравнению с паспортными данными.

Полученные результаты проведенных исследований позволили сделать вывод о том, что серия № 2-16 вакцины чумной живой может быть использована в качестве стандартного образца при контроле коммерческих серий чумных вакцин по показателям: «Специфическая активность: концентрация микробных клеток», «Специфическая активность: процент живых микробных клеток» и «Термостабильность».

На основании полученных результатов был разработан комплект сопроводительной документации на ОСО вакцины чумной живой серии № 10: паспорт на научно-техническую продукцию ОСО 42-28-392-2017, макеты этикеток упаковок и инструкция по применению.

Выводы

1. Представленная для аттестации производственная серия № 2-16 вакцины чумной живой изучена по всем показателям спецификации и может быть использована в качестве ОСО.

2. Аттестованные значения основных показателей серии № 10 ОСО 42-28-392-2017 составили:

- концентрация живых микробных клеток ($5,6 \pm 0,4$) $\cdot 10^{10}$ м.к./мл;
- процент живых микробных клеток — $34,7 \pm 9,1$ %;
- термостабильность — $13,8 \pm 4,2$ сут.

3. На основании данных по оценке стабильности серии № 9 ОСО 42-28-392-2013 вакцины чумной живой увеличен срок годности ОСО 42-28-392-2017 на 6 месяцев.

4. В результате проведенных испытаний разработаны и утверждены паспорт на научно-техническую продукцию ОСО 42-28-392-2017, макет этикетки первичной упаковки ОСО, макет этикетки вторичной упаковки ОСО, инструкция по применению ОСО.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590046-9).

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

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

Литература / References:

1. Борисевич ИВ, Петухов ВГ, Волкова РА, Устинникова ОБ, Фадейкина ОВ, Малкова ВИ. Стандартные образцы как средство метрологического обеспечения аналитических методов контроля медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП). *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2010;4(40):8–10.

- [Borisevich IV, Petukhov VG, Volkova RA, Ustinnikova OB, Fadeikina OV, Malkova VI. Standard samples as a tool to provide metrology of analytical methods of immunobiological medicines (IM) monitoring. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2010;4(40):8–10 (In Russ.)]
2. Фадейкина ОВ, Волкова РА. Разработка порядка аттестации стандартных образцов биологических лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017;51(8):44–50. [Fadeikina OV, Volkova RA. Development of the procedure for certification of the reference standards of biological medicines. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal* = *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(8):44–50 (In Russ.)]
 3. Волкова РА, Фадейкина ОВ, Мовсесянц АА, Борисевич ИВ. Опыт Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича по разработке и аттестации стандартных образцов медицинских иммунобиологических препаратов. *Стандартные образцы*. 2011;4:17–21. [Volkova RA, Fadeikina OV, Movsesyants AA, Borisevich IV. Experience of the Federal State Budgetary Institution «Tarasevich State Research Institute of Standardization and Control of biological Medicines» on development and certification of reference standards of immunobiological medical products. *Standartnyye obraztsy* = *Reference standards*. 2011;4:17–21 (In Russ.)]
 4. Бондарев ВП, Борисевич ИВ, Волкова РА, Фадейкина ОВ. Проблемы аттестации отраслевых стандартных образцов для контроля качества иммунобиологических лекарственных препаратов. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(2):28–32. [Bondarev VP, Borisevich IV, Volkova RA, Fadeikina OV. Industry reference standards certification for the control of medical immunobiological preparations. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya* = *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(2):28–32 (In Russ.)]
 5. Попов НВ, Кузнецов АА, Матросов АН, Корзун ВМ, Вержущий ДБ, Вершинин СА и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018;(1):50–5. [Popov NV, Kuznetsov AA, Matrosov AN, Korzun VM, Verzhutsky DB, Vershinin SA, et al. Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008–2017 and forecast for 2018. *Problemy osobo opasnykh infektsii* = *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018;(1):50–5 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2018-1-50-55>
 6. Фадейкина ОВ, Волкова РА. Разработка порядка аттестации стандартных образцов биологических лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017;51(8):44–50. [Fadeikina OV, Volkova RA. Elaboration of certification procedures for reference standards of biological drugs. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal* = *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2017;51(8):44–50 (In Russ.)]
 7. Волкова РА, Фадейкина ОВ. Проблемы оценки неопределенности методик испытаний и стандартных образцов иммунобиологических лекарственных средств. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(1):27–31. [Volkova RA, Fadeikina OV. Estimation of uncertainty of test methods and reference standards used for immunobiological medicines. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(1):27–31 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2017-17-1-27-31>

Об авторах

Касина Ирина Владимировна, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2002-0151>

Алексеева Светлана Александровна, канд. биол. наук, ведущий эксперт лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5804-5709>

Фадейкина Ольга Васильевна, канд. биол. наук, главный технолог лаборатории бактериофагов и препаратов нормофлоры с коллекцией микроорганизмов Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8473-7442>

Немировская Татьяна Ивановна, канд. мед. наук, начальник лаборатории бактериальных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0848-7306>

Волкова Рауза Асхатовна, д-р биол. наук, начальник лаборатории молекулярно-биологических и генетических методов испытаний Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Поступила 03.10.2018
После доработки 15.11.2018
Принята к публикации 15.11.2018

Authors

Irina V. Kasina, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-2002-0151>

Svetlana A. Alekseeva, Candidate of Biological Sciences, Leading Expert of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5804-5709>

Olga V. Fadeykina, Candidate of Biological Sciences, Chief Technologist of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8473-7442>

Tatiana I. Nemirovskaya, Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Bacterial Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0848-7306>

Rauza A. Volkova, Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory of Molecular Biology and Genetic Test Methods of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8698-2890>

Received 3 October 2018
Revised 15 November 2018
Accepted 15 November 2018



Василий Федорович Учайкин (к 80-летию со дня рождения)

Vasily Fedorovich Uchaykin (on the 80th Anniversary)

7 декабря 2018 года исполнилось 80 лет со дня рождения Василия Федоровича Учайкина, выдающегося российского ученого в области педиатрии, детских инфекционных болезней, академика РАН.

В.Ф. Учайкин родился в 1938 году в поселке Кедрач района им. Лазо Хабаровского края. После окончания в 1964 году клинической ординатуры в Хабаровском государственном медицинском институте он поступил в аспирантуру на кафедру детских инфекций 2-го Московского ордена Ленина государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова (ныне РНИМУ им. Н.И. Пирогова). Работая врачом в инфекционном отделении Морозовской детской городской клинической больницы, Василий Федорович защитил кандидатскую диссертацию по теме «Ангина при острых респираторных заболеваниях у детей». В 1977 году он защитил докторскую диссертацию по теме «Тяжелые и злокачественные формы вирусного гепатита у детей». С тех пор вся педагогическая и научная деятельность В.Ф. Учайкина связана с кафедрой инфекционных болезней у детей РНИМУ им. Н.И. Пирогова. В.Ф. Учайкин занимался активными научными исследованиями в области педиатрии, направленными на лечение и реабилитацию детей с острыми кишечными инфекциями, вирусными гепатитами, герпетическими инфекциями и острыми респираторными заболеваниями.

В.Ф. Учайкиным с сотрудниками проводились исследования по проблеме вакцинопрофилактики у детей, в частности изучению иммуногенности и профилактической эффективности рекомбинантных вакцин против гепатита В, гриппа, кори,

краснухи, менингококковой и других инфекций, в том числе у лиц с хроническими заболеваниями, что позволило значительно сократить список противопоказаний к вакцинации и расширить Национальный календарь профилактических прививок России.

Василий Федорович в 1998–2009 гг. был внештатным специалистом Минздрава России по инфекционным болезням у детей, в 2009–2015 гг. — главным педиатром ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации. С 2002 года он является президентом Ассоциации педиатров-инфекционистов.

В.Ф. Учайкин — главный редактор журнала «Детские инфекции», член редакционного совета журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение», а также член редакционных коллегий многих научных журналов.

В.Ф. Учайкин подготовил 42 кандидата и 23 доктора наук. Среди его учеников 19 заведующих кафедрами педиатрии и инфекционных болезней у детей в России и странах СНГ.

В.Ф. Учайкиным в соавторстве опубликовано более 500 работ, в том числе учебников, монографий, научных обзоров и руководств, учебно-методических и научных пособий, программ по предмету для студентов.

Василий Федорович Учайкин — дважды лауреат премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники, дважды награжден дипломом премии РАМН имени Н.Ф. Филатова; лауреат премии РГМУ, лауреат международной премии «Профессия — жизнь».



Юрий Иванович Пащенко
(к 60-летию со дня рождения)

Yuri Ivanovich Pashchenko
(on the 60th Anniversary)

22 августа 2018 года исполнилось 60 лет со дня рождения доктора биологических наук, профессора, ведущего научного сотрудника ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации» (г. Сергиев Посад) Юрия Ивановича Пащенко. Ю.И. Пащенко родился в 1958 г. в семье рабочего в пос. Димитрово Александровского района Кировоградской области.

После окончания школы в 1975 г. поступил в Днепропетровский медицинский институт, затем был переведен и в 1981 г. с отличием окончил Военно-медицинский факультет при Куйбышевском медицинском институте по специальности «Лечебно-профилактическое дело». После его окончания был направлен в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Сергиев Посад) на должность младшего научного сотрудника. В 2009 г. завершил военную службу в должности главного научного сотрудника филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, полковника медицинской службы. В 2005 г. Юрий Иванович защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических наук, в 2013 г. ему присвоено ученое звание профессора.

Основные направления исследований Ю.И. Пащенко связаны с разработкой иммунобиологических препаратов на основе культур клеток различного происхождения, применяемых для диагностики, профилактики и лечения опасных и особо опасных заболеваний вирусной и риккетсиозной этиологии.

Под его руководством защищены 7 диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Лично и в соавторстве Ю.И. Пащенко опубликовал 178 научных трудов, в том числе 3 изобретения, участвовал в разработке 8 диагностических тест-систем. При его непосредственном руководстве и участии аттестован в ГИСК им. Л.А. Тарасевича банк посевных клеток Vero (B) и клеточный банк изготовителя для производства и контроля вакцин.

Юрий Иванович в течение 12 лет является членом двух диссертационных советов: при ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России и Военной академии радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко.

Награжден медалями Вооруженных сил СССР и Российской Федерации.



Георгий Михайлович Игнатьев (к 60-летию со дня рождения)

Georgy Mihailovich Ignatyev (on the 60th Anniversary)

31 декабря 2018 года исполняется 60 лет со дня рождения доктора медицинских наук, профессора Георгия Михайловича Игнатьева.

Г.М. Игнатьев родился 31 декабря 1958 года в г. Минске. После окончания в 1982 г. Минского Государственного медицинского института (санитарно-гигиенический факультет) по специальности «врач-эпидемиолог, гигиенист» поступил в целевую аспирантуру при Институте вирусологии имени Д.И. Иванковского АМН СССР. В 1985 г. успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по теме «Реакции иммунитета в экспериментальном изучении эффективности специфических вакцин при остром энцефаломиелите человека и бешенстве» по специальности «Вирусология».

С 1985 по начало 1988 года работал в Белорусском НИИ эпидемиологии и микробиологии Министерства здравоохранения БССР в должностях младшего и старшего научного сотрудника, где занимался изучением возбудителей геморрагических лихорадок (вируса Ласса и вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС)).

В 1988–2006 годы Г.М. Игнатьев работал в Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» (пос. Кольцово Новосибирской обл.). Под руководством Г.М. Игнатьева сотрудники лаборатории изучали иммунопатогенез вирусных геморрагических лихорадок (лихорадки Ласса, Марбург, Эбола, Боливийская геморрагическая лихорадка, Денге, ГЛПС) и проводили разработку средств их специфической профилактики и диагностики. С 1996 по 2006 год Г.М. Игнатьев также проводил молекулярно-эпидемиологическое изучение эпидемического паротита и кори, руководил центром молекулярной диагностики кори. Под его руководством проведены исследования по изучению генетической однородности и стабильности штамма Ленинград-3, применяемого для производства вакцины паротитной.

В 2002 году Г.М. Игнатьев успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук по теме «Экспериментальные препараты для профилактики фило- и аренавирусных геморрагических лихорадок» по спе-

циальности «Вирусология». В 2004 году ему присвоено ученое звание «профессор» по специальности «Вирусология».

С декабря 2006 по март 2010 года Г.М. Игнатьев работал в ГИСК им. Л.А. Тарасевича в должности заведующего лабораторией вирусных кишечных инфекций и молекулярной биологии. В 2008 году Г.М. Игнатьев был приглашен Университетом штата Минас-Жерайс (Бразилия) на позицию визитинг-профессора для оказания помощи в организации работ по изучению вируса Денге.

С марта 2010 по ноябрь 2011 года Г.М. Игнатьев руководил Республиканским научно-практическим центром эпидемиологии и микробиологии Республики Беларусь (РНПЦ ЭМ МЗ РБ). Результат его работы в Республике Беларусь — создание в РНПЦ ЭМ МЗ РБ лаборатории, проводящей контроль качества иммунобиологических препаратов, ввозимых в Республику Беларусь, а также организация технического и информационного взаимодействия между РНПЦ ЭМ МЗ РБ и ЦНИИЭ Роспотребнадзора. Под его руководством проводились исследования инфекций, передающихся клещами. После возвращения из Республики Беларусь Г.М. Игнатьев работал в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

С июня 2012 по декабрь 2013 года Г.М. Игнатьев работал начальником управления науки, инновационного развития и внедрения новых препаратов ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России. С декабря 2013 г. — заместитель генерального директора по науке ООО «Форт». С мая 2016 г. — заместитель директора ФГУП СПбНИИВС ФМБА России Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического агентства. С декабря 2017 г. — заместитель директора по производству ФГБНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН».

Под руководством Георгия Михайловича успешно защищены 8 кандидатских диссертаций. Г.М. Игнатьев лично и в соавторстве опубликовал более 150 научных работ.



Подписку на журнал
«БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение»
можно оформить в любом почтовом отделении России.

- Подписной индекс в каталоге Агентства «Роспечать»
«Издания органов научно-технической информации» — 57941
- В региональных агентствах подписки
Урал-Пресс (www.ural-press.ru) — 57941
- По объединенному каталогу
«Пресса России» (www.pressa-rf.ru) — Ф57941



ISSN 2221-996X



9 772221 996004