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

БИОПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

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

Том 19, № 3
Июль – сентябрь 2019

BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment

В НОМЕРЕ

Анализ заболеваемости корью в России и проблемы профилактики кори на этапе элиминации

Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки

Включен в наукометрическую базу данных Science Index
on-line версия журнала www.biopreparations.ru

Журнал индексируется в базе данных
«Российский индекс научного цитирования» (РИНЦ).
Пятилетний импакт-фактор РИНЦ — 0,448.

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)

БИОПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

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

Том 19, № 3
Июль — сентябрь 2019

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

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

Volume 19, No. 3
July — September 2019

«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, д-р мед. наук, ст. науч. сотр., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Авдеева Жанна Ильдаровна, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Амвросьева Тамара Васильевна, д-р мед. наук, проф., РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, Республика Беларусь)
Бакулин Михаил Константинович, д-р мед. наук, проф., филиал ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (Киров, Россия)
Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Волчков Виктор Евгеньевич, д-р мед. наук, проф., Лионский университет I имени Клода Бернара (Лион, Франция)
Воробьева Мая Сергеевна, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия)
Дармов Илья Владимирович, д-р мед. наук, проф., филиал ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (Киров, Россия)
Дегтярев Сергей Харитонович, д-р биол. наук, проф., НПО «СибЭнзим» (Новосибирск, Россия)
Иванов Вячеслав Борисович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Игнатьев Георгий Михайлович, д-р мед. наук, проф., ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН» (Москва, Россия)
Леви Диана Тимофеевна, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Мосягин Вячеслав Дмитриевич, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Пащенко Юрий Иванович, д-р биол. наук, проф., ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (Сергиев Посад, Московская область, Россия)
Хамитов Равиль Авгатович, д-р мед. наук, проф., ООО «МБЦ «Генериум» (Вольгинский, Владимирская область, Россия)
Чумаков Константин Михайлович, д-р биол. наук, Центр оценки и изучения биологических препаратов, FDA (Силвер-Спринг, Мэриленд, США)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Климов Владимир Иванович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКТОР ПЕРЕВОДА

Губарева Ольга Николаевна, канд. филол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, проф., член-корр. РАН, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (Сергиев Посад, Московская область, Россия)
Брико Николай Иванович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)
Гинцбург Александр Леонидович, д-р биол. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)
Дятлов Иван Алексеевич, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск, Московская область, Россия)
Зверев Виталий Васильевич, д-р биол. наук, проф., академик РАН, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Москва, Россия)
Кутырев Владимир Викторович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора (Саратов, Россия)
Львов Дмитрий Константинович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)
Медуницын Николай Васильевич, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Михайлов Михаил Иванович, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (Москва, Россия)
Покровский Валентин Иванович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, Россия)
Савченко Валерий Григорьевич, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (Москва, Россия)
Учайкин Василий Федорович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, Ассоциация педиатров-инфекционистов (Москва, Россия)
Хаитов Рахим Мусаевич, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва, Россия)

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

Гойкалова Ольга Юрьевна, канд. биол. наук, доц., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)
Лебединская Елена Владимировна, канд. биол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКТОР

Шестакова Алина Павловна, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (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, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate,
Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITORS-IN-CHIEF

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Vladimir P. Bondarev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Zhanna I. Avdeeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Tamara V. Amvrosyeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (Minsk, Republic of Belarus)
Mikhail K. Bakulin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov, Russia)
Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Viktor E. Volchkov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Claude Bernard Lyon 1 University (Lyon, France)
Maya S. Vorobieva, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)
Ilya V. Darmov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov, Russia)
Sergey Kh. Degtyarev, Dr. Sci. (Biol.), Prof., SibEnzyme Ltd (Novosibirsk, Russia)
Vyacheslav B. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Georgy M. Ignatyev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Chumakov FSC R&D IBP RAS (Moscow, Russia)
Diana T. Levi, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Artashes A. Movsesyants, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Vyacheslav D. Mosyagin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Yuri I. Pashchenko, Dr. Sci. (Biol.), Prof., 48 Central Scientific Research Institute (Sergiev Posad, Moscow Oblast, Russia)
Ravil A. Khamitov, Dr. Sci. (Med.), Prof., International Biotechnology Center «Generium» (Volginsky, Vladimir Oblast, Russia)
Konstantin M. Chumakov, Dr. Sci. (Biol.), PhD, Center for Biologics Evaluation and Research, FDA (Silver Spring, Maryland, USA)

EDITORIAL COUNCIL

Sergey V. Borisevich, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Corr. Member of RAS, 48 Central Scientific Research Institute (Sergiev Posad, Moscow Oblast, Russia)
Nikolay I. Briko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)
Aleksandr L. Gintsburg, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Academician of RAS, N.F. Gamaleya FRCEM (Moscow, Russia)
Ivan A. Dyatlov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, FBIS SRCAMB (Obolensk, Moscow Oblast, Russia)
Vitaly V. Zverev, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Academician of RAS, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)
Vladimir V. Kutyrev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» (Saratov, Russia)
Dmitry K. Lvov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, N.F. Gamaleya FRCEM (Moscow, Russia)
Nikolay V. Medunitsyn, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Mikhail I. Mikhaylov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corr. Member of RAS, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Moscow, Russia)
Valentin I. Pokrovsky, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, Central Research Institute for Epidemiology (Moscow, Russia)
Valery G. Savchenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, National Research Center for Hematology (Moscow, Russia)
Vasily F. Uchaykin, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, Association of Pediatric Infectiologists of Russia (Moscow, Russia)
Rakhim M. Khaitov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Academician of RAS, NRC Institute of Immunology FMBA of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Vladimir I. Klimov, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

SCIENCE EDITORS

Olga Yu. Goykalova, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)
Elena V. Lebedinskaya, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

TRANSLATION EDITOR

Olga N. Gubareva, Cand. Sci. (Philology), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

EDITOR

Alina P. Shestakova, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

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

Том 19, № 3
Июль — сентябрь 2019

БИОПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

Рецензируемый научно-практический журнал

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры

Питательные среды в фармакопейном анализе: применение, действующие требования, вопросы стандартизации
С. М. Суханова, Н. Е. Захарова . . . 136

Особенности применения вакцинных препаратов для иммунопрофилактики бактериальных инфекций
Н. А. Гаврилова, Е. А. Устюгова, Н. Ф. Никитюк, Ю. И. Обухов, В. П. Бондарев . . . 145

Анализ заболеваемости корью в России и проблемы профилактики кори на этапе элиминации
Т. Н. Юнасова, Д. В. Горенков, А. В. Рукавишников, А. А. Мовсесянц, В. А. Меркулов . . . 154

Совершенствование методики оценки качества питательной среды для выявления микоплазм
С. М. Суханова, З. Е. Бердникова, А. С. Тихонова . . . 161

Оригинальные статьи

Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки
А. В. Батенева, О. В. Симакова, С. Г. Гамалей, Е. А. Волосникова, Л. Р. Лебедев, Е. Д. Даниленко . . . 169

Диагностика латентной туберкулезной инфекции в учреждениях различного профиля и формирование группы риска по заболеванию туберкулезом
А. А. Старшинова, Ю. С. Зинченко, Е. В. Истомина, Н. Ю. Басанцова, М. В. Филатов, Е. Н. Беляева, М. М. Назаренко, С. Б. Ланда, В. С. Бурдаков, М. В. Павлова, Д. Ю. Алексеев, Д. А. Кудлай, П. К. Яблонский . . . 178

Разработка и аттестация стандартного образца «Хлоркальциевый казеин»
С. М. Суханова, Р. А. Волкова, Н. Е. Захарова, О. В. Фадейкина . . . 185

Исторический архив

К вопросу о вакцинопрофилактике кори в России
Т. Н. Юнасова. . . . 193

Хроника

Иван Алексеевич Дятлов (к 60-летию со дня рождения) . . . 195

Виктор Евгеньевич Волчков (к 60-летию со дня рождения) . . . 197

4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019» . . . 198

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@expmed.ru

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

Сайт: www.biopreparations.ru

Издатель: ООО «НЭИКОН ИСП»
Юридический адрес: 115114, Москва, ул. Летниковская, д. 4, стр. 5, офис 2.4

E-mail: isupport@neicon.ru

Тел./факс: +7 (499) 754-99-94

Сайт: https://neicon.ru/

Подписано в печать: 09.09.2019

Формат 60×90/8. Усл. печ. л. 8,75
Бумага мелованная. Печать офсетная

© ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2019

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

Volume 19, No. 3
July — September 2019

BIOPREPARATIONS

PREVENTION, DIAGNOSIS, TREATMENT

Peer-reviewed scientific and practical journal

CONTENTS

Reviews

Culture Media in Pharmacopoeial Analysis: Use, Current Requirements, Standardisation
S. M. Sukhanova, N. E. Zakharova . . . 136

Special Considerations on the Use of Vaccines for Immunoprophylaxis of Bacterial Infections
N. A. Gavrilova, E. A. Ustyugova, N. F. Nikityuk, Yu. I. Obukhov, V. P. Bondarev. . . . 145

Analysis of Measles Incidence in Russia and Problems of Measles Prevention at the Elimination Stage
T. N. Yunasova, D. V. Gorenkov, A. V. Rukavishnikov, A. A. Movsesyants, V. A. Merkulov . . . 154

Ways to Improve Quality Control of Culture Medium Used for Mycoplasma Detection
S. M. Sukhanova, Z. E. Berdnikova, A. S. Tikhonova . . . 161

Original Articles

Pharmacokinetics of Recombinant Human Tumor Necrosis Factor Alpha in the Delivery System
A. V. Bateneva, O. V. Simakova, S. G. Gamaley, E. A. Volosnikova, L. R. Lebedev, E. D. Danilenko . . . 169

Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Personnel of Various Institutions and Determination of the Risk Group for Tuberculosis
A. A. Starshinova, Yu. S. Zinchenko, E. V. Istomina, N. Yu. Basantsova, M. V. Filatov, E. N. Belyaeva, M. M. Nazarenko, S. B. Landa, V. S. Burdakov, M. V. Pavlova, D. Yu. Alekseev, D. A. Kudlay, P. K. Yablonskiy . . . 178

Development and Certification of Calcium Chloride Casein Reference Standard
S. M. Sukhanova, R. A. Volkova, N. E. Zakharova, O. V. Fadeikina . . . 185

Historical archive

Some Aspects of Measles Vaccination in Russia
T. N. Yunasova . . . 193

Chronicle

Ivan Alekseevich Dyatlov (on the 60th Anniversary) . . . 195

Victor Evgenievich Volchkov (on the 60th Anniversary) . . . 197

4th Russian Conference on Medicinal Chemistry with International Participants «MedChem Russia 2019» . . . 198

Mass media registration certificate:
PI No. FS77-53128 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 Blvd, 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: «NEICON ISP» LLC.

Registered office: 4/5 Letnikovskaya St., Moscow, 115114, Russian Federation

E-mail: isupport@neicon.ru

Phone/fax: +7 (499) 754-99-94

Website: https://neicon.ru/

Passed for printing: September 9, 2019

Format 60×90/8. Conventional printed sheets: 8.75
Enamel-paper. Offset printing

© Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2019

УДК 615.076/57.083.138.6
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-136-144
ШИФР 03.01.06
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
CC BY 4.0

Питательные среды в фармакопейном анализе: применение, действующие требования, вопросы стандартизации

С. М. Суханова, Н. Е. Захарова*

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

Ключевую роль в обеспечении безопасности, качества и эффективности лекарственных препаратов, и в первую очередь биологических лекарственных препаратов, играют питательные среды (ПС) с заданными свойствами. Необходимость формирования четких критериев пригодности ПС обусловлена их использованием не только в процессе производства, но и при анализе качества. Расширение спектра производства сложных высокотехнологичных лекарственных средств, действующее вещество которых получено из биологического источника и для определения свойств и качества которых необходимы биологические методы, влечет за собой повышение требований к качеству ПС. Цель работы — изучение требований к питательным средам, используемым при производстве лекарственных средств, для определения направлений разработки национального стандарта. В настоящее время ПС исключены из Государственного реестра лекарственных средств и не имеют стандартов, использование которых позволило бы производителю подтвердить соответствие ПС конкретным требованиям безопасности, эффективности и качества. В статье приведены результаты анализа требований Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. и девяти ведущих зарубежных фармакопей к ПС различного назначения (производственные, вспомогательные и для анализа качества). Отмечено, что большинство стран регламентируют в основном требования к ПС, используемым для анализа чистоты лекарственных средств. Перечень требований (тест-штаммы, условия инкубации и хранения, подготовка к использованию, оценка пригодности), подходы к их установлению и изложению различны. В работе отражены основные проблемы и риски, связанные с оценкой качества ПС в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. Определены современные отечественные и мировые тенденции, направленные на повышение качества ПС, используемых при производстве лекарственных препаратов, и обоснована целесообразность создания соответствующего национального стандарта. Предложены направления разработки и стандартизации требований к качеству различных групп сред, используемых при производстве и контроле лекарственных средств, которые могут быть использованы при подготовке ОФС Питательные среды.

Ключевые слова: питательные среды; фармакопейные стандарты качества; биологические лекарственные препараты; оценка качества; стерильность; тиогликолевая среда

Для цитирования: Суханова СМ, Захарова НЕ. Питательные среды в фармакопейном анализе: применение, действующие требования, вопросы стандартизации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(3):136–144. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-136-144
***Контактное лицо:** Захарова Наталия Евгеньевна; Zaharova@expmed.ru

Culture Media in Pharmacopoeial Analysis: Use, Current Requirements, Standardisation

S. M. Sukhanova, N. E. Zakharova*

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

Culture media with predetermined specific characteristics play a key role in ensuring safety, quality and efficacy of medicinal products, especially biologicals. It is necessary to formulate clear criteria for culture media suitability, because they are used not only in manufacture, but also in quality control of medicinal products. The expansion of the range of complex high-technology medicinal products containing biologically derived substances as active ingredients, whose quality and properties are tested by biological methods, calls for more stringent requirements for the quality of culture media. The aim of the study was to analyse requirements for the culture media used in the production of medicinal products — in order to identify approaches to the development of a national standard. Currently, culture media are not included into the State Register of Medicinal Products, and there are no standards that could be used by manufacturers to confirm that a culture medium complies with specific safety, efficacy and quality requirements. The paper summarises the results of the analysis of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed., and nine leading world pharmacopeias' requirements for culture media used for various purposes (manufacture, auxiliary purposes, and quality control). Most countries have adopted requirements mainly for those culture media that are used in purity tests. The analysis revealed differences both in the lists of

requirements (test strains, incubation and storage conditions, preparation for use, suitability assessment), and the approaches to the establishment and presentation of requirements. The paper discusses the main challenges and risks associated with the quality control of culture media in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed. It outlines current national and international ways of improving the quality of culture media used in the production of medicinal products, and substantiates the need to develop an appropriate national standard. The paper suggests approaches to the development and standardisation of requirements for the quality of various types of media used in the production and control of medicines. These approaches could be used in the preparation of the general chapter Culture media.
Key words: culture media; pharmacopoeial quality standards; biological products; quality control; sterility; thioglycollate medium

For citation: Sukhanova SM, Zakharova NE. Culture media in pharmacopoeial analysis: use, current requirements, standardisation. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreperations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2019;19(3):136–144. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-136-144
***Corresponding author:** Natalia E. Zakharova; Zaharova@expmed.ru

Питательные среды (ПС) — однокомпонентные или многокомпонентные субстраты, широко применяемые в различных отраслях науки и производства для культивирования и изучения микроорганизмов или культур клеток высших организмов. Их используют в санитарной и клинической микробиологии для диагностики заболеваний и изучения объектов окружающей среды, в пищевой и фармацевтической промышленности при производстве и контроле качества продукции, в криминалистике. В последние годы в связи с расширением спектра производства, прежде всего, сложных биологических лекарственных препаратов (БЛП), к которым относятся иммунобиологические, биотехнологические и генотерапевтические лекарственные препараты, значимость ПС существенно возросла [1–3]. Выпуск БЛП невозможен без использования ПС как в процессе производства, так и при оценке качества. Качество этих «критических реагентов» (critical reagents)[1], обеспечивает и определяет качество лекарственных препаратов. Учитывая, что приоритетом государственного регулирования является безопасность, качество и эффективность лекарственных средств (ЛС)[2], использование при производстве отвечающих соответствующим требованиям ПС является актуальной задачей.

Цель работы — изучение требований к питательным средам, используемым при производстве лекарственных средств, для определения направлений разработки национального стандарта.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.

1. Изучить нормативную базу, определяющую в Российской Федерации требования к ПС различного назначения.

2. Провести анализ требований фармакопеи Российской Федерации и ведущих зарубежных фармакопей к ПС, используемым при производстве ЛС.

3. Определить направления разработки и стандартизации национальных требований к ПС, используемым при производстве ЛС.

До введения в действие XII изд. Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) ПС для контроля микробной загрязненности (так называемые «номерные среды» — № 1–15), а также другие ПС различного целевого назначения, относившиеся к иммунобиологическим лекарственным препаратам, в том числе и для контроля стерильности ЛС, проходили государственную регистрацию с утверждением на них фармакопейного стандарта: фармакопейной статьи (ФС) и/или фармакопейной статьи предприятия (ФСП). ФС традиционно включала перечень показателей, нормативные требования, а также подробное описание методов контроля качества соответствующей ПС[3]. На сегодняшний день ПС не включаются в Государственный реестр ЛС и не имеют действующих государственных стандартов качества[4], а нормативно-правовое регулирование производства и применения ПС осуществляется в соответствии с их назначением. Подтверждение соответствия микробиологических ПС, основ питательных и сырья биологического для вирусологических ПС, применяемых в медицине, осуществляется в форме принятия декларации о соответствии[5]. При принятии декларации о соответствии производитель (заявитель) на добровольной основе подтверждает соблюдение требований нормативной документации [4]. Государственной регистрации в качестве медицинского изделия подлежат среды, предназначенные исключительно для диагностики инфекционных заболеваний[6]. Требования к медицинским изделиям для диагностики ин витро регулируются ГОСТ Р 51088-2013[7], ГОСТ Р 51352-2013[8], ГОСТ Р ЕН 12322-2010[9]. Для обеспечения качества результатов исследований необходимо применение стандартных ПС, реагентов и использование стандартных методик проведения и учета результатов. Однако стандарты, использование которых позволило бы производителю подтвердить соответствие своего изделия конкретным требованиям безопасности, эффективности и качества, в данных документах отсутствуют. ПС, используемые в иных целях, в том числе для научных и санитарно-эпидемиологических исследований, для микробиологического контроля образцов пищевых продуктов, кормов животных, фармацевтических и косметических продуктов, образцов окружающей среды,

[1] Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory. WHO; 2010. https://www.who.int/biologicals/Guidelines_for_Lot_Release_AFTER_ECBS_27.1.2011.pdf

[2] Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

[3] Государственный реестр лекарственных средств. Минздрав России; 2000.

[4] Государственный реестр лекарственных средств. Минздрав России; редакция от 16.06.2019. http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx

[5] Постановление Правительства Российской Федерации от 01.12.2009 № 982 (ред. от 21.02.2018) «Об утверждении единого перечня продукции, подлежащей обязательной сертификации, и единого перечня продукции, подтверждение соответствия которой осуществляется в форме принятия декларации о соответствии».

[6] Федеральный закон Российской Федерации от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

[7] ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

[8] ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

[9] ГОСТ Р ЕН 12322-2010 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред.

государственной регистрации в качестве медицинских изделий не подлежат. Для работников организаций, осуществляющих изготовление ПС при серийном промышленном выпуске, а также для микробиологических лабораторий, распространяющих или изготавливающих ПС для микробиологии для собственного использования, контроль качества осуществляется согласно МУК 4.2.2316-08[10], для микробиологических лабораторий пищевой промышленности — согласно ГОСТ ISO 11133-2016[11] [5, 6]. Наиболее полно на сегодняшний день требования к качеству и методам контроля бактериологических ПС в зависимости от их назначения изложены в МУК 4.2.2316-08, а именно, их классификация и полный перечень показателей качества, включающий физико-химические показатели, а также специфическая активность (чувствительность среды, дифференцирующие, ингибирующие свойства, эффективность среды, показатель прорастания и др.). Приведена техника приготовления сред, контроля их чистоты, условия хранения, наименование тест-штаммов, необходимых для оценки специфической активности, а также условия инкубации посевов. Тем не менее, учитывая современные тенденции, направленные на повышение требований к производству и качеству ЛС, данный документ также не представляется исчерпывающим для соответствующего применения.

Основные стандарты, предназначенные для оценки качества ЛС, включая требования к используемым в целях проведения анализа реагентам и материалам, в нашей стране регламентируются ГФ РФ[12]. В XIV изд. ГФ РФ включены общие ФС (ОФС) на реактивы, титрованные и буферные растворы, однако аналогичный отечественный стандарт на ПС до настоящего времени не введен в практику фармакопейного анализа[13]. Необходимо отметить, что в ОФС 1.3.0001.15 Реактивы. Индикаторы приводятся сведения об отдельных реактивах и индикаторах (глюкоза, натрия хлорид, динатрия фосфат, феноловый красный, фуксин основной), которые могут выступать в качестве вспомогательных компонентов ПС. Однако ПС в отличие от химических реактивов имеют, как правило, более сложный состав, поскольку содержат в качестве основы неоднородное по своим свойствам, характеризующееся высокой степенью вариабельности биологическое сырье, качество которого главным образом обеспечивает качество самой среды [3].

В связи с этим для установления требований к качеству ПС, используемых не только для производства, но и для оценки качества лекарственных препаратов, этой информации, безусловно, недостаточно. Общий анализ статей ГФ РФ XIV изд. подтверждает, что ПС различного назначения находят свое применение как на подготовительных этапах, так и в процессе производства ЛС и оценки их качества. Использование ПС различного назначения предусмотрено требованиями более 30 ОФС на методы анализа и группы препаратов, а также практически всеми ФС, предусматривающими оценку стерильности или микробиологической чистоты готового ЛС. Обобщение и систематизация данных ГФ РФ XIV изд. по целевому назначению ПС, используемых для выпуска ЛС, позволяет условно разделить их на две основные группы: производственные и непроизводственные (рис. 1).

Дальнейший критический анализ статей ГФ РФ XIV изд. показал, что приводимая информация, касающаяся общих сведений в отношении выбора и подготовки ПС различного назначения, как правило, ограничивается требованием к использованию оптимальной/адекватной среды и/или к приготовлению ее в соответствии с приведенной в фармакопее рецептурой, а при использовании коммерческих сред — в соответствии с инструкцией производителя. Установлено, что подходы к изложению и объему приводимой информации, требованию к составу и оценке пригодности, условиям и срокам хранения, режиму стерилизации и объему выборки при проверке стерильности ПС могут значительно различаться и не всегда соответствовать руководящим документам по ПС[14].

Наличие такого рода разночтений может приводить к затруднениям при воспроизведении методик, а также стать причиной признания испытания недостоверным. Необходимо отметить, что наиболее полно в ГФ РФ XIV изд. описаны требования к средам, применяемым для анализа чистоты ЛС по показателям «Стерильность»[15] и «Микробиологическая чистота»[16], однако и в этих документах прописи ПС, способы приготовления и условия контроля их специфических свойств описаны с различной степенью детализации, иногда с взаимоисключающими рекомендациями. В качестве примера в таблице 1 приведены отличия требований ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность и ОФС 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота к одной и той же по назначению среде Сабуро.

Сходная ситуация наблюдается и в отношении изложения требований в ОФС к условиям и срокам хранения ПС. Приготовленные в лаборатории среды, предназначенные для оценки качества ЛС по показателю «Стерильность», могут храниться при температуре «от 2 до 25 °С в защищенном от света месте

[10] МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

[11] ГОСТ ISO 11133-2016 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред.

[12] Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

[13] Общая фармакопейная статья 1.3.0001.15 Реактивы. Индикаторы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.3.0002.15 Титрованные растворы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.3.0003.15 Буферные растворы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

[14] Общая фармакопейная статья 1.7.1.0003.15 Бифидосодержащие пробиотики. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.7.1.0009.15 Споровые пробиотики. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.7.2.0006.15 Испытание вирусных вакцин на присутствие посторонних агентов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.7.2.0001.15 Безопасность пробиотиков в тестах in vivo. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

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

Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

[15] Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

[16] Общая фармакопейная статья 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

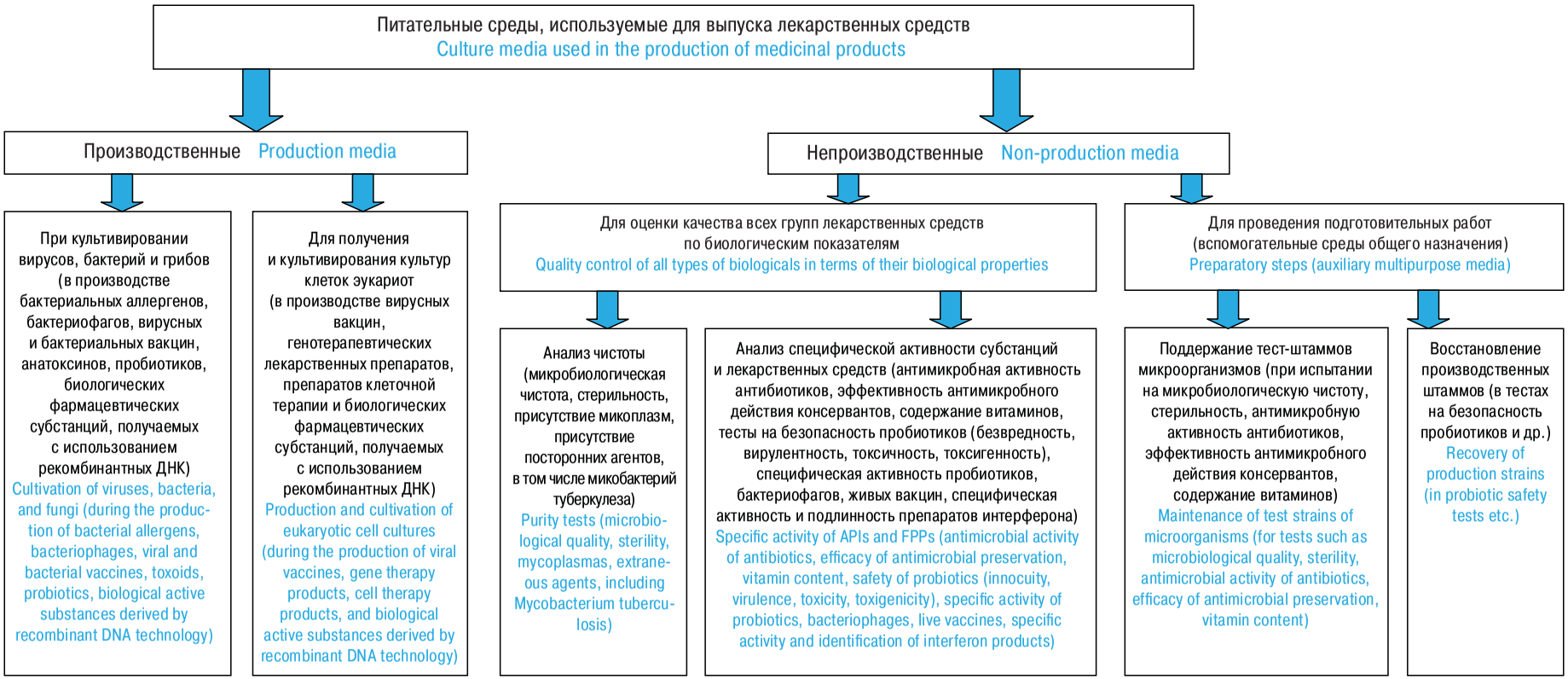


Рис. 1. Систематизация питательных сред в фармакопейном анализе (в рисунке использованы материалы общих фармакопейных статей: 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота; 1.2.4.0003.15 Стерильность; 1.2.4.0010.18 Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар; 1.2.4.0011.15 Определение эффективности антимикробных консервантов; 1.2.4.0012.15 Определение содержания витаминов в многокомпонентных лекарственных препаратах микробиологическим методом; 1.7.1.0001.15 Аллергены; 1.7.1.0002.15 Бактериофаги; 1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины; 1.7.1.0007.15 Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК; 1.7.1.0008.15 Пробиотики; 1.7.1.0009.15 Споровые пробиотики; 1.7.2.0001.15 Безопасность пробиотиков в тестах *in vivo*; 1.7.2.0002.15 Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток; 1.7.2.0006.15 Испытание вирусных вакцин на присутствие посторонних агентов; 1.7.2.0009.15 Определение специфической активности пробиотиков; 1.7.2.0011.15 Требования к клеточным культурам — субстратам производства биологических лекарственных препаратов; 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм; 1.9.1.0001.18 Генотерапевтические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018).

Fig. 1. Types of culture media used in pharmacopoeial analysis (the figure was drawn based on the texts of the following general chapters: 1.2.4.0002.18 Microbiological quality; 1.2.4.0003.15 Sterility; 1.2.4.0010.18 Determination of antimicrobial activity of antibiotics by the diffusion method; 1.2.4.0011.15 Efficacy of antimicrobial preservation; 1.2.4.0012.15 Determination of vitamin content in multicomponent medicinal products by the microbiological method; 1.7.1.0001.15 Allergens; 1.7.1.0002.15 Bacteriophages; 1.7.1.0004.15 Vaccines and toxoids; 1.7.1.0007.15 Medicinal products derived by recombinant DNA technology; 1.7.1.0008.15 Probiotics; 1.7.1.0009.15 Spore probiotics; 1.7.2.0001.15 Safety of probiotics in *in vivo* tests; 1.7.2.0002.15 Cell-culture based biological assays used for interferon products; 1.7.2.0006.15 Tests for extraneous agents in viral vaccines; 1.7.2.0009.15 Specific activity of probiotics; 1.7.2.0011.15 Requirements for cell cultures used as substrates in the production of biological products; 1.7.2.0031.15 Mycoplasma tests; 1.9.1.0001.18 Gene therapy medicinal products. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed.; 2018).

Таблица 1. Примеры отличий требований к среде Сабуро ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность и ОФС 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота
Table 1. Examples of differences in the requirements for Sabouraud medium described in general chapters OFS 1.2.4.0003.15 Sterility and OFS 1.2.4.0002.18 Microbiological quality

Название ОФС General chapter	Питательная среда Culture medium	Компоненты питательной среды, г/л Culture medium components, g/L			
		пептон ферментативный enzymatic peptone	пептон мясной meat peptone	пептон казеиновый casein peptone	глюкозы моногидрат glucose monohydrate
ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность OFS 1.2.4.0003.15 Sterility	Жидкая среда Сабуро Sabouraud Liquid Medium	10,0	-	-	40,0
ОФС 1.2.4.0002.18 Микробиологическая чистота OFS 1.2.4.0002.18 Microbiological quality	Бульон Сабуро Sabouraud Broth	-	5,0	5,0	20,0

в течение 1 месяца или иного валидированного срока». При этом аналогичные ПС лабораторного изготовления, предназначенные для оценки качества ЛС по показателю «Микробиологическая чистота», следует хранить при комнатной температуре (т. е. от 15 до 25 °С) до окончания срока годности (?) или 3 месяца при температуре 2–8 °С. Помимо этого требования к оценке пригодности и хранению ПС, предназначенных для испытания БЛП, содержащих живые микроорганизмы, по показателю «Микробиологическая чистота» не приводятся, а условия инкубации (32,5 ± 2,5) °С при оценке ростовых свойств (МПА, агар Эндо) отличаются от условий инкубации (37 ± 1) °С при проведении испытаний, что противоречит рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) инкубировать среды при той же температуре, при которой проводятся испытания[17]. Различные режимы инкубации рекомендованы также и для контроля стерильности приготовленных в лабораториях ПС.

Сравнительный анализ требований девяти ведущих зарубежных фармакопей: Республики Беларусь (БФ), Казахстан (КФ), Украины (ГФУ), Индии (ИФ), Великобритании (БрФ), Японии (ЯФ), США (ФСША), а также Международной (МФ) и Европейской фармакопей (ЕФ)[18] к ПС, используемым при производстве ЛС, показал, что ведущие фармакопеи мира, в том числе стран-членов ЕАЭС, также не имеют фармакопейного стандарта на ПС. Исключение составляет ФСША, в которой требования к ПС, предназначенным для оценки качества ЛС, обобщены и представлены в соответствующей монографии[19]. Документ включает как общие рекомендации по подготовке ПС к использованию (выбор надлежащих ПС, компонентов, воды; соблюдение инструкций по приготовлению и рекомендации по взвешиванию, растворению, стерилизации, используемой посуде, измерению pH, проверке емкостей перед испытанием), так и требования к оценке их качества (определение pH и ростовых свойств, периодическая проверка стабильности качества для подтверждения срока годности), к хранению и утилизации, а также к контролю красителей для идентификации микроорганизмов.

В фармакопеях других стран также наибольшее внимание уделяется ПС, предназначенным для анализа качества ЛС, и, в первую очередь их чистоты, поэтому требования к составу ПС, порядку контроля и условиям его выполнения приводятся в монографиях, посвященных биологическим испытаниям. В соответствии с назначением ПС определяются подходы к оценке их пригодности. Основным критерием пригодности сред для анализа чистоты ЛС служит наличие роста соответствующих тест-штаммов после внесения не более 100 КОЕ и инкубации не более 5 суток, подтверждающего способность среды к выявлению искомых микроорганизмов. Для некоторых установленных требований допускается возможность отступления от четкой регламентации. В частности, разрешено использование тест-штаммов других коллекций, типичных по своим свойствам, других условий стерилизации, сроков хранения, объема выборки при условии валидации процедуры[20]. Возможно изменение концентрации некоторых ингредиентов, особенно биологического происхождения, в связи с тем, что их качество может быть различным[21]. Вместе с тем, результаты сравнительного анализа требований к тиогликолевой среде,

[17] WHO Expert committee on biological standardization. WHO Technical Report Series 530; 1973.
[18] European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.
Государственная фармакопея Республики Беларусь. I изд.; 2006.
Государственная фармакопея Республики Казахстан. I изд.; 2008.
Государственная фармакопея Украины. II изд.; 2016.
Indian Pharmacopoeia. 2010.
British Pharmacopoeia. 2012.
Japanese Pharmacopoeia 17th ed.; 2016.
The International Pharmacopoeia (First and Second Suppl.) 8th ed.; 2018.
USP 41–NF 36.
[19] USP 41–NF 36 <1117> Microbiological best laboratory practices.
[20] Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.
European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.
Государственная фармакопея Республики Беларусь. I изд.; 2006.
Japanese Pharmacopoeia 17th ed.; 2016.
Государственная фармакопея Украины. II изд.; 2016.
Indian Pharmacopoeia. 2010.
[21] European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.
British Pharmacopoeia. 2012.

Таблица 2. Основные требования различных фармакопей к качеству жидкой тиогликолевой среды, используемой при испытании лекарственных средств по показателю «Стерильность»
Table 2. The main requirements for the quality of fluid thioglycollate medium used in sterility tests as described in different pharmacopoeias

Показатель Parameter	Требования к качеству питательной среды согласно фармакопеям Requirements for the culture medium quality as described in different pharmacopoeias		
	ГФ РФ XIV изд. ОФС 1.2.4.0003.15 Ph. Rus., 14th ed. OFS 1.2.4.0003.15	**ЕФ, ЯФ, БФ, БрФ, ГФУ, КФ, МФ, ФСША Ph. Eur., JP, Ph. Bel., BP, Ph. Ukr., Ph. Kaz., Ph. Int., USP**	**ИФ IP**
Назначение Intended use	Для выявления анаэробных, аэробных бактерий и грибов Detection of anaerobic and aerobic bacteria, and fungi	Для выявления в первую очередь анаэробных бактерий, но обнаруживает и аэробные бактерии Primarily intended for the detection of anaerobic bacteria; however, it will also detect aerobic bacteria	
Состав (отличия) Composition (differences)	Допускается, отличия в составе при условии соответствия требованиям по ростовым свойствам There may be differences in composition provided the requirements for growth promoting properties are met	Допускается отсутствие агара, раствора резазурина натрия Agar and resazurin sodium solution may be omitted	
Тест-штаммы Test strains	*Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis* или *Bacillus cereus*, *Alcaligenes faecalis*, *Candida albicans*, *Clostridium novyi*. При температуре 30–35 °С *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus subtilis* or *Bacillus cereus*, *Alcaligenes faecalis*, *Candida albicans*, *Clostridium novyi*. At 30–35 °C	*Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Micrococcus luteus (Kocuria rhisophila)* — альтернативный *Pseudomonas aeruginosa* в ФСША и ИФ *Bacteroides vulgatus* — альтернативный *Clostridium sporogenes* в ФСША *Bacillus subtilis* — альтернативный *Clostridium sporogenes* в ИФ *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* *Micrococcus luteus (Kocuria rhisophila)* — as an alternative to *Pseudomonas aeruginosa* in USP and IP *Bacteroides vulgatus* — as an alternative to *Clostridium sporogenes* in USP *Bacillus subtilis* — as an alternative to *Clostridium sporogenes* in IP	
Условия инкубации Incubation conditions	При температуре 30–35 °С. При использовании в качестве универсальной дополнительно при температуре 20–25 °С At 30–35 °С. Additionally, at 20–25 °С, if used as multipurpose growth medium	При температуре 30–35 °С At 30–35 °С	
Режим стерилизации Sterilisation conditions	121 °С, 15 мин 121 °С, 15 min	Валидация Validation	120 °С, 20 мин 120 °С, 20 min
Условия хранения Storage conditions	В защищенном от света месте. При температуре от 2 до 25 °С Protected from light. At 2–25 °С	Валидация Validation	В защищенном от света месте. При температуре от 2 до 30 °С Protected from light. At 2–30 °С
pH	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,2
Срок хранения Shelf-life	1 месяц или иной валидированный срок 1 month or another validated period	Валидация Validation	1 месяц 1 month

Примечание. ГФ РФ — Государственная фармакопея Российской Федерации; ЕФ — Европейская фармакопея; ЯФ — фармакопея Японии; БФ — Государственная фармакопея Республики Беларусь; БрФ — Британская фармакопея; ГФУ — Государственная фармакопея Украины; КФ — Государственная фармакопея Республики Казахстан; МФ — Международная фармакопея; ФСША — фармакопея США; ИФ — фармакопея Индии; ОФС — общая фармакопейная статья.
Note. Ph. Rus. — State Pharmacopoeia of the Russian Federation; Ph. Eur. — European Pharmacopoeia; JP — Japanese Pharmacopoeia; Ph. Bel. — State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus; BP — British Pharmacopoeia; Ph. Ukr. — State Pharmacopoeia of Ukraine; Ph. Kaz. — State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan; Ph. Int. — International Pharmacopoeia; USP — United States Pharmacopoeia; IP — Indian Pharmacopoeia; OFS — general monograph.

рекомендованной всеми фармакопеями для оценки качества ЛС по показателю «Стерильность», представленные в таблице 2, свидетельствуют, что даже при практически одинаковом составе среды базовые рекомендации (режим стерилизации, тест-штаммы для оценки ростовых свойств, условия инкубации и хранения) в фармакопеях различных стран также могут существенно отличаться.

С различной степенью детализации приводится фармакопеями порядок приготовления этой среды, включающий необходимость проведения процедуры фильтрования, соблюдения соотношения площади поверхности среды к ее глубине при выборе емкости, а также проверки ее пригодности в отношении сохранения анаэробных условий. Например, в ГФ РФ XIV изд. требование по соблюдению соотношения площади поверхности среды к ее глубине не рассматривается в связи с тем, что в качестве емкостей рассматривается использование только пробирок, чем обеспечивается необходимое соотношение. Такое ограничение при выборе емкостей, на наш взгляд, нецелесообразно из-за высокой трудоемкости процедуры посева, а также невозможности ее выполнения в соответствии с требованиями ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность по минимальному количеству испытуемого препарата, необходимого для посева на ПС при исследовании образцов препаратов, выпускаемых большими сериями и/или в больших емкостях[22].

В отношении выбора режима стерилизации большинство стран на сегодняшний день сходится во мнении о необходимости валидации данной процедуры в связи с тем, что ее эффективность, а также ростовые свойства простерилизованной среды, зависят от различных факторов[23], в том числе и от объема стерилизуемых жидкостей. Только в ГФ РФ XIV изд. и ИФ приводятся конкретные, при этом различные, режимы стерилизации одной и той же среды: 121 °С 15 мин и 121 °С 20 мин, соответственно, при этом допускается использовать также и другие режимы, если они приведены в нормативной документации. То есть, по сути, это является прямым указанием на необходимость проведения валидации. Срок и условия хранения тиогликолевой среды большинством фармакопей также не указываются в связи с тем, что требования должны устанавливаться на основании результатов процедуры валидации. В качестве исключения можно привести наличие данной информации в ОФС 1.2.4.0003.15 Стерильность и в монографии ИФ (табл. 2).

Перечень основных штаммов, необходимых для оценки ростовых свойств тиогликолевой среды, в рассматриваемых фармакопеях преимущественно одинаковый. Однако в России он расширен, с одной стороны, для возможности проведения испытания иммунобиологических лекарственных препаратов с помощью одной универсальной среды, а с другой — для сохранения национальных стандартов при проведении испытаний других ЛС [7, 8]. Возможность использования одной тиогликолевой среды для оценки качества препаратов с ртутьсодержащими консервантами в составе, которые не могут быть проконтролированы с помощью метода мембранной фильтрации, предусмотрена также требованиями ЕФ, ФСША, МФ, БФ, при условии подтверждения в валидационных испытаниях ее способности поддерживать рост аэробных и анаэробных бактерий и грибов, засеянных в количестве не более 100 КОЕ. Согласно материалам ГФ РФ, ИФ, ФСША допускается изменение количества и наименования типичных по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам тест-штаммов, необходимых для оценки ростовых свойств тиогликолевой среды. Набор тест-штаммов может быть изменен также в зависимости от способа применения или состава испытуемого препарата, что представляется нам наиболее подходящим решением. Такой подход согласуется с рекомендациями ВОЗ[24], а также МФ[25], по возможности выбора разнообразных аэробных, анаэробных тест-штаммов бактерий и грибов, включая такие их виды, которые обнаруживаются в среде производственных помещений [9]. Несмотря на наличие во всех фармакопеях требования проверки на стерильность и ростовые свойства используемой среды, предмет проверки (серия, партия) и очередность проведения оценки качества (до или во время испытания) также могут не всегда однозначно трактоваться. Объем выборки для проведения испытания на стерильность самой среды указывается только в ГФ РФ XIV изд. При этом количество емкостей, необходимое для проведения испытания (не менее 5 %), превышает нормы выборок для испытания образцов ЛС на стерильность (2 %), а также для проверки готовых к применению сред[26] и не соответствует требованиям ОФС 1.4.0004.15 Отбор проб[27].

Анализ требований различных фармакопей, предъявляемых к ПС, на примере только тиогликолевой среды в рамках испытания ЛС на стерильность, выявил наличие многочисленных расхождений, касающихся как подготовки к испытанию, оценке качества, так и к условиям и срокам хранения среды. Для расширения возможностей испытания рядом фармакопей допускаются отклонения от жесткой регламентации процедуры, при сохранении принципа испытания, в связи с тем, что излишняя детализация и конкретизация процедур могут существенно ограничивать возможности испытания, особенно сложных высокотехнологичных ЛС, приводя при несоблюдении фармакопейных требований к признанию испытания недействительным. Изучение данных по ПС другого назначения позволило установить, что требования к качеству вспомогательных ПС в ГФ РФ XIV изд. и в рассматриваемых зарубежных фармакопеях ограничиваются общими положениями об их адекватности, использовании соответствующих методов посева и условий инкубации[28]. Для полноценной эффективной работы с данной группой сред, обеспечивающих сохранение и стабильность свойств посевного материала и тест-штаммов, используемых при производстве и контроле ЛС, также необходимо формирование надлежащих требований.

Определяющими факторами для формирования требований российской и зарубежных фармакопей к качеству производственных ПС, как правило, являются вопросы, связанные с безопасностью готового продукта. Требования к качеству производственных ПС в ГФ РФ XIV изд. представлены с уче-

[22] Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.
[23] WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series No. 978; 2010.
[24] WHO Expert committee on biological standardization. WHO Technical Report Series 530; 1973.
[25] Международная фармакопея. Третье издание. Т. 1; 1981.
[26] МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.
[27] Общая фармакопейная статья 1.1.0004.15 Отбор проб. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.
[28] 5.2.3. Cell substrates for the production of vaccines for human use. European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.
Общая фармакопейная статья 1.7.2.0011.15 Требования к клеточным культурам-субстратам производства биологических лекарственных препаратов. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

том современных подходов к оценке наиболее актуальных рисков. Как и в ЕФ, в ГФ РФ XIV изд. установлены особые ограничения, предъявляемые к ряду компонентов ПС, используемых в производстве БЛП, которые не должны содержать ингредиентов, вызывающих токсические, аллергические или другие нежелательные реакции у людей, а при использовании таких компонентов следует продемонстрировать, что их количество в конечном продукте ниже уровня, гарантирующего безопасность для человека[29]. Отмечается, что при оценке рисков особое внимание должно уделяться риску, связанному с контаминацией губчатой энцефалопатией животных и латентными вирусами[30]. Согласно требованиям ГФ РФ XIV изд. одним из условий, обеспечивающим качество БЛП, является использование «адекватных» ПС, обладающих высокими ростовыми свойствами (сырье и реагенты, используемые при производстве ПС, должны иметь сертификаты, подтверждающие их качество)[31]. Не вызывает сомнения тот факт, что при выборе ПС для производства ЛС под «высокими ростовыми свойствами» должна подразумеваться не традиционная способность к выявлению контаминации, а требования к уровню соответствующей продуктивности и/или эффективности. В ЕФ отмечается необходимость учета рисков при использовании для производства вакцин ПС, содержащих компоненты животного происхождения. По согласованию с уполномоченным органом в ПС для выращивания клеток допускается использование сыворотки крови животных, но среда, используемая для поддержания роста клеток при размножении вируса, не должна содержать сыворотку крови, если не указано иначе в частной статье. Предпочтительно, чтобы среды, используемые в процессе производства, также не содержали антибиотиков[32].

Обобщение данных фармакопей разных стран и современных требований, предъявляемых к производству ЛС, позволяет сделать вывод о том, что в качестве основного подхода при оценке качества ПС рассматривается важность соблюдения принципа управления рисками для качества. Надлежащая производственная практика напрямую связана с необходимостью проведения валидации, т. е. документированного подтверждения соответствия установленным требованиям и характеристикам качества всех процессов и методик применительно к конкретному производству и выпускаемой продукции, включая требования к качеству ПС. С целью доказательства пригодности ПС для оценки качества должны подтверждаться их ростовые свойства, методика испытания должна быть валидирована для каждой ПС и ЛС[33]. При использовании эффективных сред в процессе производства (производственные среды) особое внимание должно быть уделено возможному риску контаминации конечного продукта.

Анализ действующей нормативной базы в части требований, предъявляемых к ПС, свидетельствует о целесообразности и необходимости разработки национального фармакопейного стандарта, в котором, принимая во внимание современные тенденции, направленные на унификацию международных требований, предъявляемых к качеству ЛС и повышению уровня фармакопейного анализа, следует отразить основные критерии и требования к качеству различных по назначению групп ПС, используемых при производстве и контроле ЛС. Решение поставленной задачи должно заключаться не столько в конкретизации и/или детализации требований к ПС, сколько в создании системного дифференцированного подхода к оценке качества сред различного назначения, включающего возможные от использования ПС риски, влияющие на качество ЛС.

Выводы

1. Анализ нормативной базы, определяющей требования к питательным средам в Российской Федерации, показал, что государственные стандарты, регламентирующие требования к питательным средам, используемым при производстве лекарственных средств, отсутствуют.

2. Установлено, что в России и за рубежом наиболее полно фармакопейные требования изложены к питательным средам, используемым для анализа чистоты лекарственных средств. Перечень требований, включающий подготовку питательной среды, оценку качества и условия хранения, а также подходы к их установлению и изложению, различны.

3. Обоснована целесообразность и определены основные направления разработки и стандартизации требований к качеству различных групп питательных сред, используемых при производстве и контроле лекарственных средств, для подготовки ОФС Питательные среды в Государственной фармакопее Российской Федерации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Конфликт 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.

[29] Общая фармакопейная статья 1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.
Общая фармакопейная статья 1.7.1.0002.15 Бактериофаги. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.
European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.
Общая фармакопейная статья 1.7.1.0008.15 Пробиотики. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

[30] Общая фармакопейная статья 1.7.1.0010.18 Биологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

[31] Общая фармакопейная статья 1.7.1.0010.18 Биологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.
Общая фармакопейная статья 1.7.1.0018.18 Иммунобиологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.
Общая фармакопейная статья 1.7.1.0011.18 Биотехнологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

[32] 5.2.3. Cell substrates for the production of vaccines for human use. European Pharmacopoeia 9th ed.; 2017.

[33] Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».
Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (в ред. Федеральных законов № 192-ФЗ от 27.07.2010; № 271-ФЗ от 11.10.2010; № 313-ФЗ от 29.11.2010).

Литература/References

1. Суханова СМ, Захарова НЕ. Питательные среды в практике микробиологических исследований. В кн.: Лабинская АС, Волина ЕГ, ред. *Руководство по медицинской микробиологии. Кн. 1. Общая и санитарная микробиология*. М.: Бином; 2008. С. 221–54. [Sukhanova SM, Zakharova NE. Nutrient media in microbiological research practice. In: Labinskaya AS, Volina EG, eds. *Guideline on Medical microbiology. Bk. 1. General and Sanitary Microbiology*. Moscow: Binom; 2008. P. 221–54 (In Russ.)]
2. Sandle T. Selection of microbiological culture media and testing regimes. In: Saghee MR, Sandle T, Tidswell EC, eds. *Microbiology and Sterility Assurance in Pharmaceuticals and Medical Devices*. New Delhi: Business Horizons; 2010. P. 101–20.
3. Поляк МС, Сухаревич ВИ, Сухаревич МЭ. *Питательные среды для медицинской микробиологии.* СПб: НИЦФ; 2003. [Polyak MS, Sukharevich VI, Sukharevich ME. *Nutrient Media for Medical Microbiology*. St. Petersburg: RCPH; 2003 (In Russ.)]
4. Якимов ЮМ, Миронов АН, Борисевич ИВ, Меркулов ВА, Фокина АЛ, Волгин АР. К вопросу подтверждения соответствия иммунобиологических лекарственных препаратов требованиям нормативной документации. *Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2012;(3):19–22. [Yakimov YM, Mironov AN, Borisevich IV, Merkulov VA, Fokina AL, Volgin AR. On the question of conformity assessment of immunobiological preparations to the requirements of the normative documents. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2012;(3):19–22 (In Russ.)]
5. Шепелин АП, Дятлов ИА. *Питательные среды для энтеробактерий*. М.: Династия; 2017. [Shepelin AP, Dyatlov IA. *Nutrient Media for Enterobacteria*. Moscow: Dinastia; 2017 (In Russ.)]
6. Нечаев ВН, Манзенюк ИН, Шипулин ГА, Колин ВВ, Шепелин АП, Масяго АВ и др. Российские производители медицинских изделий для диагностики *in vitro* о проблемах в отрасли. *Современная лабораторная диагностика*. 2015;17(3):25–9. [Nechaev VN, Manzenuk IN, Shipulin GA, Kolin VV, Shepelin AP, Masyago AV, et al. Russian manufacturers of medical devices for *in vitro* diagnostics about problems in the industry. *Sovremennaya laboratornaya diagnostika = Modern Laboratory Diagnostics*. 2015;17(3):25–9 (In Russ.)]
7. Суханова СМ, Бердникова ЗЕ, Захарова НЕ, Меркулов ВА. Испытание на стерильность иммунобиологических лекарственных препаратов в России. История вопроса и современные требования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(1):5–15. [Sukhanova SM, Berdnikova ZE, Zakharova NE, Merkulov VA. Sterility testing of immonobiological medicinal products in Russia. Historical background and current requirements. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(1):5–15 (In Russ.)] https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-1-5-15
8. Суханова СМ, Бердникова ЗЕ, Захарова НЕ, Голубенко ИА. Новый подход к испытаниям препаратов лекарственных средств на стерильность. В кн.: *Тезисы Всероссийской научно-практической конференции «Вакцинология 2010. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней»*. М.; 2010. С. 108. [Sukhanova SM, Berdnikova ZE, Zakharova NE, Golubenko IA. A new approach to testing drugs for sterility. In: *Theses of the All-Russian Scientific and Practical Conference «Vaccinology 2010. Improvement of Immunological Means of Prevention, Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases»*. Moscow; 2010. P. 108 (In Russ.)]
9. Sutton S. Assessment of culture media in pharmaceutical microbiology. *Pharmaceutical Microbiology Forum Newsletter*. 2007;13(7):3–9.

Об авторах / Authors

Суханова Светлана Михайловна, канд. биол. наук. *Svetlana M. Sukhanova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-6621-4384

Захарова Наталия Евгеньевна, канд. биол. наук. *Natalia E. Zakharova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0003-0985-3694

Поступила 08.07.2019
После доработки 02.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 8 July 2019
Revised 2 August 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 614.4:615.371
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-145-153
ШИФР 14.03.09
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ Клиническая иммунология, аллергология

CC BY 4.0

Особенности применения вакцинных препаратов для иммунопрофилактики бактериальных инфекций

Н. А. Гаврилова*, Е. А. Устюгова, Н. Ф. Никитюк, Ю. И. Обухов, В. П. Бондарев

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

Массовая вакцинопрофилактика является неотъемлемой частью иммунопрофилактики инфекционных болезней и признана мировым сообществом одной из главных составляющих сохранения жизни и здоровья детей и взрослых. Цель работы — провести анализ современного состояния проблемы вакцинопрофилактики против бактериальных инфекций детей в возрасте до одного года в условиях перенасыщения Национального календаря профилактических прививок в Российской Федерации, а также имеющихся несоответствий между типами вакцин, находящихся в обращении, и рекомендациями по их применению. Рассмотрены типы противобактериальных вакцин, находящихся в обращении на территории Российской Федерации, особенности комбинирования различных антигенов и взаимозаменяемости вакцин. Обоснована необходимость обновления рекомендаций по проведению вакцинации против бактериальных инфекций, выработки единых правил применения вакцин, их комбинирования и взаимозаменяемости, установления требований к содержанию инструкций по применению вакцин. Обобщены основные проблемы обеспечения безопасности вакцинопрофилактики с учетом комбинирования антигенов и одновременного введения нескольких вакцин. Обсуждаются вопросы безопасности «многодозовой иммунизации» и стратегия снижения потенциальных рисков вакцинопрофилактики в условиях плотного графика вакцинации. Показана безопасность применяемых схем иммунизации и необходимость обновления нормативных документов, регламентирующих порядок проведения вакцинации. Выявлена необходимость гармонизации рекомендаций по применению вакцин, принятых в разных странах, на основе анализа опыта клинического применения и результатов международных клинических исследований.

Ключевые слова: вакцины; антиген; комбинированные вакцины; схема вакцинации; многодозовая вакцинация; дисфункция иммунной системы

Для цитирования: Гаврилова НА, Устюгова ЕА, Никитюк НФ, Обухов ЮИ, Бондарев ВП. Особенности применения вакцинных препаратов для иммунопрофилактики бактериальных инфекций. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2019;19(3):145–153. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-145-153

***Контактное лицо:** Гаврилова Наталья Андреевна; gavrilova@expmed.ru

Special Considerations on the Use of Vaccines for Immunoprophylaxis of Bacterial Infections

N. A. Gavrilova*, E. A. Ustyugova, N. F. Nikityuk, Yu. I. Obukhov, V. P. Bondarev

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

Mass vaccination is an essential element of immunoprophylaxis of infectious diseases, and the global community has agreed that it is crucial for preserving the lives and health of children and adults. The objective of this study was to analyse the current state of vaccination of infants under one year old against bacterial infections, given that the National Immunisation Schedule is overladen with various vaccines, and there are apparent inconsistencies between the types of marketed vaccines and recommendations on their use. The article summarises the types of antibacterial vaccines marketed in the Russian Federation, analyses some aspects of combination of different antigens and interchangeability of vaccines. The authors justify the need to amend recommendations on antibacterial vaccination and to develop common rules for the use and combination of vaccines, as well as for their interchangeability. Another important issue is adoption of requirements for the contents of patient information leaflets. The article summarises the main safety concerns regarding the use of polyvalent vaccines and simultaneous vaccination against several pathogens. It discusses safety issues of multiple immunisation and the strategy to reduce potential risks associated with an intensive vaccination schedule. The authors highlight the safety of current immunisations schedules and the need to update vaccination standards. They also demonstrate the need to harmonise national recommendations on the use of vaccines based on clinical data and the results of international clinical trials.

Key words: vaccines; antigen; combination vaccines; vaccination schedule; multiple immunisation; immune dysfunction

For citation: Gavrilova NA, Ustyugova EA, Nikityuk NF, Obukhov YuI, Bondarev VP. Special considerations of the use of vaccines for immunoprophylaxis of bacterial infections. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreperations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(3):145–153. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-145-153

***Corresponding author:** Natalia A. Gavrilova; gavrilova@expmed.ru

Вакцинация в течение нескольких десятилетий остается единственным надежным способом профилактики инфекционных заболеваний у детей и взрослых. Порядок проведения массовой вакцинации против конкретных инфекций и возраст лиц, подлежащих обязательной вакцинации, определяются во всем мире национальными календарями профилактических прививок. Схема массовой вакцинации периодически пересматривается и дополняется в связи с введением новых профилактических прививок. Если в 1980-х годах дети до года прививались против пяти-шести инфекций (туберкулез, дифтерия, столбняк, коклюш, полиомиелит, корь), то к середине 2000-х годов здоровый ребенок получал более пятнадцати доз вакцин для профилактики пяти инфекций в первые полгода жизни и до двух лет жизни вакцинировался в среднем против одиннадцати инфекций[1] [1].

Действующий в Российской Федерации Национальный календарь профилактических прививок (Национальный календарь) предполагает обязательную вакцинацию против двенадцати инфекций (с учетом гриппа и гемофильной инфекции)[2]. Таким образом, каждый раз с включением в Национальный календарь вакцины против новой инфекции встает вопрос поиска «окна» в существующем плотном графике вакцинаций. Одним из решений проблемы перенасыщения национальных календарей во всем мире было и остается применение комбинированных вакцин, позволяющих существенно уменьшить число инъекций за один визит, что является особенно важным для детей первого года жизни.

В то же время применение комбинированных вакцин, как и одновременное введение нескольких моновакцин, часто затрудняет оценку безопасности вакцинации, поскольку регистрируемые нежелательные реакции сложно связать с конкретным введенным антигеном.

Кроме того, существует неопределенность в отношении выбора комбинаций вакцин и схем вакцинации, а также риска получения дополнительных излишних доз отдельных антигенов. Помимо этого, некоторые антигены, входящие в состав комбинированных вакцин, могут обладать сниженной иммуногенностью[3].

С другой стороны, увеличение числа вводимых вакцин и проведение в первый год жизни так называемой многодозовой иммунизации рассматривается современным экспертным сообществом как определенный риск для иммунной системы [1]. Сложность механизмов иммунного ответа, возможность поликлонального ответа на антиген и сходство антигенных детерминант некоторых белков микроорганизмов и человека («молекулярная мимикрия») требуют, по мнению ведущих национальных органов по контролю и профилактике инфекционных заболеваний, тщательного подхода к оценке безопасности схем вакцинации, соблюдению необходимых интервалов, а также должного контроля за информацией, получаемой в период пострегистрационного наблюдения.

Следует отметить, что одновременное нахождение в обращении вакцин для профилактики одной и той же инфекции, но с разными торговыми наименованиями, создает дополнительные проблемы с выбором препарата для первичной и бустерной вакцинации. Более того, современная программа вакцинации должна учитывать возможность применения новых комбинированных препаратов и нетипичных для вакцин лекарственных форм (например, спреев и трансдермальных пластырей).

Цель работы — провести анализ современного состояния проблемы вакцинопрофилактики против бактериальных инфекций детей в возрасте до одного года в условиях перенасыщения Национального календаря профилактических прививок в Российской Федерации и имеющихся несоответствий между типами вакцин, находящихся в обращении, и рекомендациями по их применению.

Комбинирование антигенов в вакцинных препаратах, применяемых при первичной иммунизации

Плановая иммунизация как детей, так и взрослых предусматривает введение вакцин в определенной последовательности в установленные сроки в соответствии с Национальным календарем[4].

В рамках Национального календаря детям первого года жизни проводится первичная вакцинация против туберкулеза, вирусного гепатита В, полиомиелита, дифтерии, столбняка, коклюша, гемофильной и пневмококковой инфекций. Вакцины для профилактики данных инфекций используются в практическом здравоохранении в течение многих лет и характеризуются высокой эффективностью и безопасностью. Большинство антигенов, входящих в состав вакцин, предназначенных для детей первого года жизни, хорошо изучены, их иммуногенность оценена по единым международным стандартам, а безопасность подтверждена многолетним опытом применения.

Схемы вакцинации против дифтерии, столбняка и коклюша практически идентичны в разных странах и включают курс двух- или трехкратной первичной вакцинации комбинированными препаратами с последующей ревакцинацией.

Иммунизация проводится вакцинами, содержащими дифтерийный и столбнячный анатоксины и коклюшный компонент в виде инактивированных цельных клеток (АКДС) или коклюшного бесклеточного компонента (аАКДС).

Одновременное присутствие на рынке вакцин с коклюшным компонентом, имеющим различную структуру и свойства, а также появление все большего числа комбинаций вакцин АКДС и аАКДС с другими антигенами, такими как антигены для профилактики полиомиелита, гемофильной инфекции и вирусного гепатита В, создает серьезные трудности для специалистов практического здравоохранения.

Согласно выводам ВОЗ, обе вакцины, содержащие цельноклеточный и бесклеточный коклюшные компоненты, имеют достаточно высокие показатели безопасности и сопоставимую профилактическую эффективность.

Однако для бесклеточной вакцины отмечается более быстрое угасание поствакцинального иммунитета, что требует проведения дополнительного курса ревакцинации. В то же время иммунизация, проведенная АКДС-вакциной, исключает необходимость последующего проведения возрастных ревакцинаций против коклюша (табл. 1)[5] [3].

В Российской Федерации разрешены к применению вакцины с коклюшным компонентом обоих видов. Такие вакцины

[1] https://www.who.int/immunization/policy/immunization_tables/en/

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

[3] Ezeanolue E, Harriman K, Hunter P, Kroger A, Pellegrini C. General best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf

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

[5] https://www.who.int/immunization/policy/immunization_tables/en/

Таблица 1. Схема ревакцинации против дифтерии, коклюша, столбняка в зависимости от вида вакцины[6]
Table 1. Booster vaccination against diphtheria, pertussis, and tetanus based on the vaccine type[6]

Вид вакцины[a] Vaccine type[a]	Кратность вакцинации Vaccination frequency	Возраст проведения ревакцинации Vaccination age	Препарат для ревакцинации Booster vaccine
АКДС DTP	3-кратно 3 times	I ревакцинация — 18 месяцев II ревакцинация — 6–7 лет III ревакцинация — 14 лет I booster — 18 months II booster — 6–7 years III booster — 14 years	I ревакцинация — АКДС II и III ревакцинации — АДС-М — комбинация дифтерийного и столбнячного анатоксинов (с уменьшенным содержанием дифтерийного компонента) I booster — DTP II and III boosters — Td — tetanus toxoid + reduced-dose diphtheria toxoid
аАКДС DTaP	3-кратно 3 times	I ревакцинация — 18 месяцев II ревакцинация — 4–7 лет III ревакцинация — 9–15 лет I booster — 18 months II booster — 4–7 years III booster — 9–15 years	I ревакцинация — аАКДС II и III ревакцинации — аАКДС — комбинация дифтерийного и столбнячного анатоксинов (с уменьшенным содержанием дифтерийного компонента) с бесклеточной коклюшной вакциной I booster — DTaP II and III boosters — Tdap — tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine

[a] Приведены принятые в мире условные обозначения для вакцин, содержащих дифтерийный и столбнячный анатоксины и коклюшный компонент в виде инактивированных цельных клеток (АКДС) или коклюшного бесклеточного компонента (аАКДС).
[a] International abbreviations for vaccines containing tetanus and diphtheria toxoids and an inactivated whole-cell pertussis component (DTP) or an acellular pertussis component (DTaP).

могут применяться как в рамках программы массовой вакцинации в соответствии с Национальным календарем, так и по индивидуальной схеме. Однако схема первичной вакцинации для указанных вакцин различается. Так, вакцины аАКДС разрешены к применению с 2 месяцев жизни согласно 2- или 3-кратной схеме первичной иммунизации, в то время как АКДС-вакцина показана к применению с 3-месячного возраста по 3-кратной схеме иммунизации. Имеются также расхождения в схеме ревакцинаций. Для цельноклеточных вакцин предусмотрена одна ревакцинация против коклюша в рамках Национального календаря (в возрасте 18 мес.). Что касается применения бесклеточных вакцин, то однократной ревакцинации для напряженного и длительного иммунитета против коклюша недостаточно. Согласно рекомендациям ВОЗ требуется проведение возрастных ревакцинаций в 4–7 лет (II ревакцинация) и 9–15 лет (III ревакцинация). Отсутствие отдаленных ревакцинаций в Национальном календаре для бесклеточных коклюшных вакцин отрицательно сказывается на иммунной прослойке популяции детей младшего школьного возраста и подростков, что создает эпидемиологическую опасность распространения коклюшной инфекции на территории Российской Федерации.

Серьезного внимания специалистов также заслуживает появление информации о разработке нового отечественного комбинированного препарата на основе АКДС с цельноклеточным коклюшным и оригинальным гемофильным компонентами [4]. Согласно мнению разработчиков, данная комбинированная вакцина АКДС-ГепВ+Hib может быть рекомендована для вакцинации детей в возрасте 6 месяцев, ранее привитых в роддоме против гепатита В и получивших плановые вакцинации против дифтерии, коклюша и столбняка в возрасте 3 и 4,5 месяцев, а также для детей в возрасте 4,5 и 6 месяцев, ранее не привитых против гепатита В [4].

Введение гепатитного и гемофильного компонентов в комбинацию антигенов АКДС-вакцины преследовало цель снизить число инъекций при проведении плановой вакцинации. Однако комбинирование данных компонентов не согласуется со схемой первичной вакцинации против гепатита В (24 ч, 1 мес., 6 мес.), и в результате вакцина АКДС-ГепВ+Hib фактически может быть применима детям только в возрасте 6 месяцев. Кроме того, вакцинация против гемофильной инфекции предусмотрена в российском календаре профилактических прививок только для детей групп риска, которым ранее были проведены две иммунизации одним из лицензированных монопрепаратов (АКТ-ХИБ® или Хиберикс®) или одним из комбинированных препаратов с бесклеточным коклюшным компонентом.

В 2018 году в Российской Федерации был зарегистрирован еще один подобный препарат аАКДС-Геп В+Hib, содержащий оригинальный бесклеточный коклюшный компонент, не имеющий аналогов в мире[7]. Применение указанной вакцины также ограничено категорией детей в возрасте 6 месяцев, что существенно затрудняет ее использование в клинической практике.

Важно отметить, что принцип объединения антигенов в одном препарате, принятый во всем мире для сокращения числа инъекций, безусловно, является научным достижением. Однако данный принцип должен соблюдаться с учетом последовательности проведения прививок, указанной в Национальном календаре, и при доказанной безопасности и эффективности одновременного или последовательного введения нескольких различных антигенов в рамках одного курса иммунизации.

Ранее разработанные и зарегистрированные, в том числе в России, многокомпонентные вакцины для иммунизации детей первого года жизни содержат антигены, безопасность сочетания которых доказана в рамках многолетних предрегистрационных и пострегистрационных исследований (табл. 2, 3).

[6] Приказ Минздрава России от 21.03.2014 № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».
[7] http://grls.rosminzdrav.ru/

Таблица 2. Антигенный состав многокомпонентных комбинированных вакцин, зарегистрированных в Российской Федерации
Table 2. Antigenic composition of multicomponent combination vaccines licensed in the Russian Federation

Торговое наименование вакцины[a] Vaccine commercial name[a]	Антигены, входящие в состав вакцины Vaccine antigens					
	Д D	К P	С T	Г Hep	Х Hem	П Pol
АКДС DTP	Анатоксин Toxoid	Инактивированные клетки *Bordetella pertussis* Inactivated *Bordetella pertussis* cells	Анатоксин Toxoid	-	-	-
Бубо®-Кок Bubo-Coc	Анатоксин Toxoid	Инактивированные клетки *Bordetella pertussis* Inactivated *Bordetella pertussis* cells	Анатоксин Toxoid	Поверхностный антиген Surface antigen	-	-
АКДС-Геп В DTP-Hep B	Анатоксин Toxoid	Инактивированные клетки *Bordetella pertussis* Inactivated *Bordetella pertussis* cells	Анатоксин Toxoid	Поверхностный антиген Surface antigen	-	-
аАКДС-Геп В+Hib DTaP-Hep B+Hib	Анатоксин Toxoid	Антигенная фракция *Bordetella pertussis* *Bordetella pertussis* antigenic fraction	Анатоксин Toxoid	Поверхностный антиген Surface antigen	Полирибозилрибитол фосфат Polyribosylribitol phosphate	-
Инфанрикс® Infanrix	Анатоксин дифтерийный Diphtheria toxoid	Анатоксин коклюшный, гемагглютинин филаментозный, пертактин Pertussis toxoid, filamentous haemagglutinin, pertactin	Анатоксин столбнячный Tetanus toxoid	-	-	-
Инфанрикс® Пента[b] Infanrix Penta[b]	Анатоксин дифтерийный Diphtheria toxoid	Анатоксин коклюшный, гемагглютинин филаментозный, пертактин Pertussis toxoid, filamentous haemagglutinin, pertactin	Анатоксин столбнячный Tetanus toxoid	Поверхностный антиген Surface antigen	-	Инактивированный вирус полиомиелита 1, 2, 3 типов Inactivated poliovirus types 1, 2, and 3
Инфанрикс® Гекса Infanrix Hexa	Анатоксин дифтерийный Diphtheria toxoid	Анатоксин коклюшный, гемагглютинин филаментозный, пертактин Pertussis toxoid, filamentous haemagglutinin, pertactin	Анатоксин столбнячный Tetanus toxoid	Поверхностный антиген Surface antigen	Капсульный полисахарид Capsular polysaccharide	Инактивированный вирус полиомиелита 1, 2, 3 типов Inactivated poliovirus types 1, 2, and 3
Тетраксим[c] Tetraxim[c]	Анатоксин дифтерийный Diphtheria toxoid	Анатоксин коклюшный, гемагглютинин филаментозный Pertussis toxoid, filamentous haemagglutinin, pertactin	Анатоксин столбнячный Tetanus toxoid	-	-	Инактивированный вирус полиомиелита 1, 2, 3 типов Inactivated poliovirus types 1, 2, and 3
Пентаксим Pentaxim	Анатоксин дифтерийный Diphtheria toxoid	Анатоксин коклюшный, гемагглютинин филаментозный Pertussis toxoid, filamentous haemagglutinin, pertactin	Анатоксин столбнячный Tetanus toxoid	-	Капсульный полисахарид Capsular polysaccharide	Инактивированный вирус полиомиелита 1, 2, 3 типов Inactivated poliovirus types 1, 2, and 3

Примечание. Д — дифтерийный антиген; К — коклюшный антиген; С — столбнячный антиген; Г — гепатитный антиген; Х — гемофильный антиген; П — полиомиелитный антиген.
[a] В таблице приведены сокращенные торговые наименования вакцин.
[b] Находилась в обращении в Российской Федерации с 29.09.2011 до 19.01.2016.
[c] Находилась в обращении в Российской Федерации с 12.05.2011 до 25.06.2019.
Note. D — diphtheria antigen; P — pertussis antigen; T — tetanus antigen; Hep — hepatitis antigen; Hem — hemophilia antigen; Pol — polio antigen.
[a] The table provides abbreviated commercial names of vaccines.
[b] The vaccine was marketed in the Russian Federation from 29 September 2011 until 19 January 2016.
[c] The vaccine was marketed in the Russian Federation from 12 May 2011 until 25 June 2019.

Таблица 3. Антигенный состав моновакцин, зарегистрированных в Российской Федерации
Table 3. Antigenic composition of monovalent vaccines licensed in the Russian Federation

Торговое наименование вакцины[a] Vaccine commercial name[a]	Антигены, входящие в состав вакцины Vaccine antigens	
	Х Hem	Пн Pn
Вакцина гемофильная тип b конъюгированная Haemophilus B conjugate vaccine	Капсульный полисахарид Capsular polysaccharide	-
АКТ-ХИБ[b] ACT-HIB[b]	Капсульный полисахарид Capsular polysaccharide	-
Хиберикс® Hiberix	Капсульный полисахарид Capsular polysaccharide	-
Превенар® 13 Prevenar 13	-	Полисахариды 13 серотипов, конъюгированные с дифтерийным белком CRM197 Polysaccharides of 13 serotypes conjugated to diphtheria CRM197 protein
Синфлорикс Synflorix	-	Полисахариды 10 серотипов, конъюгированные с дифтерийным, столбнячным анатоксинами и D-протеином нетипируемой *Haemophilus influenzae* Polysaccharides of 10 serotypes conjugated to diphtheria and tetanus toxoids and protein D of nontypeable *Haemophilus influenzae*

Примечание. Х — гемофильный антиген; Пн — пневмококковый антиген.
[a] В таблице приведены сокращенные торговые наименования вакцин.
[b] Находилась в обращении в Российской Федерации с 11.12.2008 до 19.01.2016.
Note. Hem — hemophilia antigen; Pn — pneumococcal antigen.
[a] The table provides abbreviated commercial names of vaccines.
[b] The vaccine was marketed in the Russian Federation from 11 December 2008 until 19 January 2016.

Обращают на себя внимание различия в структуре отдельных компонентов вакцин, предназначенных для профилактики одной инфекции. Помимо упоминавшегося коклюшного компонента, это гемофильный компонент, который может быть представлен в вакцинах различных торговых наименований в виде капсульного полисахарида или химически синтезированного полирибозилрибитол фосфата, а также пневмококковые антигены, которые могут быть представлены большим или меньшим числом серотипов и конъюгируются с рекомбинантным дифтерийным белком или двумя анатоксинами и D-протеином *Haemophilus influenzae* (табл. 3).

Несмотря на тот факт, что структура капсульного гемофильного антигена в вакцинах, произведенных разными производителями, может быть неидентичной для разных торговых наименований вакцин, имеющиеся данные подтверждают, что при иммунизации детей вакцинами, произведенными разными производителями, достигаются защитные титры антител [5]. Однако вопрос сопоставимости иммуногенности капсульного и синтетического гемофильных антигенов при их комбинировании с другими антигенами в одном препарате в настоящее время изучен недостаточно.

В связи с этим встает вопрос о взаимозаменяемости вакцин в рамках программы вакцинации детей первого года жизни. Согласно общепринятым правилам мировой практики возможность применения вакцин разных производителей для профилактики одной и той же инфекции не означает их взаимозаменяемости. В процессе получения одного и того же антигена возможно применение различных стабилизаторов, консервантов, белков-носителей, что может оказывать существенное влияние на эффективность вакцин, тем самым определяя различия в показателях их эффективности. С целью формирования напряженного специфического иммунитета предпочтительным является завершение каждого курса вакцинации одним препаратом[8] [6]. Исключение составляют вакцины против гепатита В, при условии, что они произведены на основе одного антигена и их дозировки и схемы вакцинации совпадают.

Рекомендации регуляторных органов США по взаимозаменяемости вакцин заключаются в том, что комбинированные или моновалентные по составу вакцины, произведенные одним производителем, считаются взаимозаменяемыми[9].

Продолжение курса вакцинации другим препаратом, содержащим большее количество антигенов, разрешено также при иммунизации пневмококковыми вакцинами [6]. В настоящее время CDC (Centers for Disease Control and Prevention, Центры по контролю и профилактике заболеваний) рекомендует проведение вакцинации конъюгированной пневмококковой вакциной PCV13 пациентов с иммунодефицитом и пожилых людей с последующей ревакцинацией 23-валентной полисахаридной вакциной[10].

Поскольку в Национальном календаре не рассматривается вопрос о взаимозаменяемости вакцин, а в инструкциях по применению зарегистрированных препаратов имеется ссылка на их введение в рамках Национального календаря, сохраняется возможность комбинирования вакцин внутри одного курса вакцинации в любой последовательности, с использованием сочетаний доступных моно- и комбинированных препаратов. Следует отметить, что проведенный анализ инструкций по при-

[8] Ezeanolue E, Harriman K, Hunter P, Kroger A, Pellegrini C. General best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf
[9] Там же.
[10] Там же.

менению находящихся в обращении вакцин не выявил каких-либо результатов оценки эффективности и безопасности последовательного применения вакцин, содержащих различные антигены, при проведении вакцинации или ревакцинации, которые были бы получены в ходе клинических исследований.

В качестве примера можно привести цикл завершенных и продолжающихся пострегистрационных клинических исследований пневмококковых вакцин нескольких производителей. Целью этих исследований является изучение безопасности и эффективности последовательного применения полисахаридных и конъюгированных вакцин для различных возрастных групп[11].

Пострегистрационные клинические исследования фармацевтической компании GlaxoSmithKline, завершенные в 2019 году, ставили своей целью подтвердить наличие поствакцинального иммунитета к гепатиту В у детей в возрасте 4–5, 9–11 и 14–15 лет, ранее привитых вакциной Инфанрикс® Гекса в рамках первичной иммунизации с трехкратным введением вакцины. В рамках данного исследования было показано наличие иммунной памяти к гепатиту В у детей всех возрастных групп, ранее привитых по трехкратной схеме вакциной Инфанрикс® Гекса. Доля детей с иммунитетом к гепатиту В, не требующим ревакцинации, различалась в зависимости от возраста[12]. Данная информация была внесена в действующую инструкцию по применению вакцины Инфанрикс® Гекса. Необходимость в проведении ревакцинации против гепатита В детям до 15 лет определяется наличием законченного курса вакцинации. Дети, получившие прививки против гепатита В по трехкратной схеме, не подлежат ревакцинации против гепатита В, что не распространяется на детей, привитых двукратно.

С нашей точки зрения, эти результаты, во-первых, показали влияние выбора схемы первичной иммунизации на отдаленные результаты профилактической эффективности вакцины и, во-вторых, явились положительным примером отношения разработчика к полноте информации, содержащейся в инструкции по применению препарата.

Существующая на сегодняшний день теоретическая возможность применения в рамках одной индивидуальной программы иммунизации вакцин с цельноклеточным и бесклеточным коклюшными компонентами, а также последовательного применения вакцин с различным составом, делает результаты такой вакцинации плохо прогнозируемыми и усложняет прививочный анамнез ребенка.

Следует отметить, что форма инструкции по применению препаратов данной группы не предполагает детального описания полного курса вакцинации и, как правило, не содержит конкретной информации о препаратах для ревакцинации, а также действиях врача при прерывании схемы вакцинации и возможности взаимозаменяемости вакцин. Имеющиеся противоречия являются предметом обсуждения заинтересованных специалистов [2, 7].

В то же время при нарушениях сроков иммунизации, предусмотренных Национальным календарем, вакцинация проводится по индивидуальной схеме в соответствии с установленными требованиями и инструкциями по применению препаратов[13].

Приведенная информация указывает на необходимость обновления существующих рекомендаций по проведению вакцинации против бактериальных инфекций, в особенности детей первого года жизни, выработки единых правил применения вакцин, их комбинирования и взаимозаменяемости. Результаты проведенного анализа подтверждают необходимость установления требований к содержанию разделов инструкций по применению вакцин и объему информации, включаемых в основные разделы.

Критерии выбора безопасной схемы иммунизации с применением комбинированных вакцин

Применение вакцин осуществляется на основании требований Национального календаря и инструкций по их применению[14]. В основе разработанных схем вакцинации лежат результаты клинических и эпидемиологических исследований. Оптимальную защиту от инфекций и безопасность иммунизации возможно обеспечить при условии соответствия с возрастными сроками и рекомендованными интервалами между введениями вакцин[15].

Однако плотный график вакцинаций в течение первого года жизни и отдельные поствакцинальные реакции, зачастую не связанные с введением вакцинного препарата, формируют в обществе негативное отношение к профилактическим прививкам и, как следствие, увеличение отказов от вакцинации.

Следует отметить, что детальный ретроспективный анализ безопасности «многодозовой иммунизации», проведенный по заказу Консультативного комитета по практике иммунизации (Advisory Committee on Immunization Practices, ACIP) и опубликованный Комитетом по контролю за безопасностью вакцинации (Immunization Safety Review Committee Institute of Medicine) в США, не выявил дополнительных рисков развития поствакцинальных осложнений, в том числе связанных с дисфункцией иммунной системы [1].

Теоретически риск развития дисфункции обоснован естественными и давно известными механизмами функционирования иммунной системы человека и связан прежде всего с эффектами молекулярной мимикрии и поликлональной активации, которые могут служить причиной неадекватного и непредсказуемого ответа иммунной системы на введение чужеродного антигена. Ограниченное число репертуара иммунных Т-клеток, а также схожесть отдельных эпитопов микробных антигенов и собственных молекул организма создают условия для развития неспецифической или поликлональной активации Т-клеток, что резко увеличивает риск развития аутоиммунных заболеваний [6].

Эпидемиологические исследования по изучению безопасности вакцинации с учетом отдаленных последствий воздействия на иммунную систему не проводились. Отсутствие таких исследований не позволяет адекватно оценить отдаленную безопасность вакцин с учетом применяемых схем иммунизации, что затрудняет оценку прогностического состояния защищенности привитых лиц.

Более того, попытки проведения ретроспективного анализа оценки безопасности отдельных схем вакцинации детей выявили невозможность адекватной оценки в связи с отсут-

[11] Ezeanolue E, Harriman K, Hunter P, Kroger A, Pellegrini C. General best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf

[12] https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Hepatitis+B&cond=Infanrix+Hexa%E2%84%A2&rank=1#rowId0

[13] СП 3.3.2342–08 Обеспечение безопасности иммунизации.

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

[15] Ezeanolue E, Harriman K, Hunter P, Kroger A, Pellegrini C. General Best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf

ствием документированного подтверждения о примененных схемах. Имели место случаи отказов от вакцинации, которые зачастую завершались обращением в альтернативные медицинские центры, и информация о прививочном анамнезе как полностью привитых детей, так и детей с незавершенным курсом вакцинации, была недостаточно полной для изучения конкретного графика вакцинации [8, 9].

Тем не менее наличие биологических механизмов индуцирования аутоиммунных заболеваний, а также дополнительные риски, такие как различия в способах введения антигенов, времени экспозиции антигена, типах иммунных ответов при вакцинации и естественном инфекционном процессе, требуют, по мнению экспертного сообщества, пристального внимания.

По результатам ретроспективного анализа безопасности «многодозовой иммунизации», проведенного ACIP, были представлены серьезные научные доказательства риска гетерологичных инфекционных заболеваний при «многодозовой иммунизации», связанного с тем, что при одномоментном введении большого количества антигенов на фоне имеющегося ресурса иммунной системы возможно индуцирование инфекционных процессов, не связанных с профилактируемыми инфекциями [1].

В качестве стратегии обеспечения безопасности вакцинации ACIP рекомендует включать в эпидемиологические исследования больных с аутоиммунными и аллергическими заболеваниями с целью проведения анализа их прививочного анамнеза, а также обновления и конкретизации стратегии выработки рекомендаций для применения вакцин.

Таким образом, выбор схемы иммунизации, установление интервалов между введением антигенов, а также обеспечение прослеживаемости прививочного анамнеза каждого ребенка являются необходимыми условиями снижения потенциальных рисков вакцинопрофилактики.

Показания к применению и схема введения вакцины должны быть подробно изложены в инструкции по медицинскому применению.

Обращает на себя внимание то, что для большинства зарегистрированных вакцин в разделе «Способ применения и дозы» приводится стандартная формулировка «Применяется в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок», а далее для импортных препаратов, как правило, указывается схема индивидуальной вакцинации, обоснованная результатами клинических исследований. Следует отметить, что большинство производителей вакцин придерживаются схем вакцинации, утвержденных Национальным календарем. Вместе с тем отсутствие в Национальном календаре требований к применению комбинированных препаратов, за исключением АКДС, а также некоторые различия между национальными календарями разных стран в перечне профилактируемых заболеваний являются основной причиной расхождений в применяемых схемах иммунизации. В частности, согласно Национальному календарю, в отличие от рекомендаций ВОЗ, прививки против гемофильной инфекции проводятся только лицам, относящимся к группе риска инфицирования.

Отсутствие критериев применения комбинированных препаратов фактически приводит к дополнительной иммунизации против гепатита В здоровых детей в возрасте 6 месяцев. Данная ситуация возможна в случае, если для остальных плановых иммунизаций против дифтерии, столбняка и коклюша был выбран комбинированный препарат, содержащий гепатитный компонент. Схема такой иммунизации предполагает 3-кратное введение вакцины в 2, 4 и 6 месяцев, в то время как иммунизация против гепатита В начинается монопрепаратом в первые 24 ч жизни ребенка и предполагает завершение первичного курса в 6 месяцев после введения трех доз вакцины.

Такие несоответствия и формальное отношение к информации по применению вакцин требуют внимательного рассмотрения, поскольку риски и безопасность вакцинации, а также ее профилактическая эффективность в данном случае уже не определяются данными разработчика препарата, полученными в клинических исследованиях, а являются неопределенными и непредсказуемыми в каждом индивидуальном случае.

Согласно общепринятой мировой практике вакцинопрофилактики для каждого антигена установлены минимальный возраст начала иммунизации и допустимые интервалы между введениями вакцин[16].

Как правило, при нарушении схемы плановой вакцинации или вакцинации по эпидемическим показаниям ребенок прививается по индивидуальному графику. В этом случае применяется ускоренная вакцинация за счет сокращения интервалов между введениями, рекомендованными при рутинной иммунизации. При этом не допускается введение вакцин раньше срока вакцинации, предусмотренного календарем профилактических прививок. Запрещается уменьшение минимального интервала, указанного для отдельных антигенов, поскольку имеющаяся клиническая практика показывает, что введение доз вакцины с короткими интервалами или проведение вакцинации в допрививочном возрасте может привести к субоптимальному иммунному ответу[17].

Для комбинированных препаратов минимальный возраст применения определяется тем антигеном, для которого установлен максимальный возраст проведения иммунизации. При этом минимальный интервал между введениями комбинированных вакцин не должен быть меньше самого большого интервала, установленного для индивидуальных компонентов вакцины.

В Национальном календаре на сегодняшний день отсутствуют требования по минимальному возрасту начала вакцинации, например бесклеточными коклюшными вакцинами, и интервалам введения комбинаций антигенов. Отдельные рекомендации по допустимым интервалам между введением живых вакцин и препаратов крови приведены в МУ 3.3.1.1095–02 Медицинские противопоказания к проведению профилактических прививок препаратами национального календаря прививок.

Нет конкретных рекомендаций к проведению так называемых ускоренных и догоняющих схем вакцинации с применением комбинированных препаратов. В связи с этим на практике применение ускоренных схем вакцинации зачастую осуществляется в соответствии с инструкциями по применению вакцин и зарубежными руководствами вне рамок Национального календаря.

Проблемным вопросом при вакцинации детей до 1 года остается возможность одновременного введения нескольких вакцин в один прививочный день. Согласно Национальному календарю допускается введение нескольких вакцин в разные анатомические области. Однако максимально возможное число вводимых препаратов не указано. Лицензированные комбинированные препараты позволяют решить этот вопрос лишь отчасти, что отмечается экспертами разных стран[18].

[16] МУ 3.3.1.1095-02 Медицинские противопоказания к проведению профилактических прививок препаратами национального календаря прививок.
[17] Ezeanolue E, Harriman K, Hunter P, Kroger A, Pellegrini C. General best practice guidelines for immunization. Best practices guidance of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf
[18] Там же.

Например, отмечается, что количество вакцин, которые необходимо ввести в один и тот же диапазон времени, возрастает пропорционально возрасту ребенка. При этом предполагается, что практика вакцинации и результаты проведенных клинических исследований по совместному введению разных вакцин создают надежную базу для проведения безопасного для ребенка курса вакцинации. Следует отметить, что согласно рекомендациям американского и европейского руководств по вакцинации допустимо распределение всех необходимых доз в течение некоторого периода времени, не ограниченное одним прививочным днем. Это возможно в связи с отсутствием запрета на последовательное введение инактивированных и некоторых живых вакцин без соблюдения определенного интервала. Согласно данным ACIP и EMA введение различных инактивированных антигенов не требует соблюдения интервала между ними. В случае если нет доказательств, что инактивированные антигены интерферируют с другими инактивированными или живыми вакцинами, любая инактивированная вакцина может быть введена совместно или раздельно с другой вакциной в любые сроки, соответствующие графику иммунизации.

Согласно Национальному календарю интервал между введениями различных вакцин при раздельном введении составляет 1 месяц.

Данное противоречие может служить препятствием при одобрении протоколов международных клинических исследований и, следовательно, препятствовать выходу новых вакцин на российский рынок.

Успешное лицензирование и практическое применение зарубежных вакцин, с нашей точки зрения, свидетельствуют о возможности гармонизации требований по безопасному введению инактивированных и живых вакцин и интервалов при их раздельном введении. Это подтверждается результатами завершенных международных клинических исследований комбинированных вакцин, в том числе с участием России.

Заключение

Современные условия и тенденция к дополнению национальных календарей профилактических прививок диктуют необходимость постоянного обновления руководящих документов по безопасному применению вакцин, в особенности для детей первого года жизни.

Анализ руководящих документов по организации и проведению плановой вакцинации в России показал имеющиеся несоответствия между видами вакцин, находящихся в обращении, и требованиями, предъявляемыми к профилактическим вакцинам. Сложившаяся ситуация указывает на необходимость пересмотра Национального календаря профилактических прививок в Российской Федерации. Отсутствие требований к комбинированным вакцинам и четких критериев выбора вакцины для первичной и бустерной вакцинации, недостаточность информации по применению препарата могут приводить к снижению эффективности вакцинопрофилактики, искусственно занижать профиль безопасности вакцин.

Одним из подходов к решению указанных проблем является гармонизация основных правил по применению вакцин, принятых в разных странах, на основе анализа опыта клинического применения и результатов международных клинических исследований.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Конфликт 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. Stratton K, Wilson CB, McCormick MC, eds. *Immunization safety review: multiple immunizations and immune dysfunction*. Washington, DC: National Academies Press; 2002.
2. Акимова ЮИ, Проценко МВ. Комбинированные вакцины на основе АКДС: преимущества, сложности, перспективы. *Современная организация лекарственного обеспечения*. 2013;(4):15–21. [Akimova YuI, Protsenko MV. DTP-based vaccines: advantages, difficulties and prospects. *Sovremennaya organizatsiya lekarstvennogo obespecheniya = Current Drug Supply Management*. 2013;(4):15–21 (In Russ.)]
3. Алексеева ИА, Перелыгина ОВ. Сравнительный анализ использования цельноклеточных и бесклеточных коклюшных вакцин для профилактики коклюшной инфекции. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017;17(4):207–15. [Alekseeva IA, Perelygina OV. Comparative analysis of whole-cell and accellular pertussis vaccines efficacy in preventing pertussis. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOprepations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017;17(4):207–15 (In Russ.)]
4. Фельдблюм ИВ, Романенко ВВ, Николаева АМ, Субботина КА, Соснина ОЮ, Перминова ОА и др. Результаты многоцентрового клинического исследования новой комбинированной вакцины АКДС-ГепВ+Hib производства НПО «Микроген» при иммунизации детей 6 месяцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018;(2):68–75. [Feldblyum IV, Romanenko VV, Nikolaeva AM, Subbotina KA, Sosnina OYu, Perminova OA, et al. Results of a multicenter clinical study of a new combination vaccine DTaP-HepB+Hib production of the CPA «Microgen» for immunization of children 6 months. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(2):68–75 (In Russ.)]
5. Anderson EL, Decker MD, Englund JA, Edwards KM, Anderson P, McInnes P, Belshe RB. Interchangeability of conjugated Haemophilus influenzae type b vaccines in infants. *JAMA*. 1995;273(11):849–53. https://doi.org/10.1001/jama.1995.03520350031024
6. National Advisory Committee on Immunization (NACI). Interchangeability of diphtheria, tetanus, acellular pertussis, polio, Haemophilus influenzae type b combination vaccines presently approved for use in Canada for children <7 years of age. *Can Commun Dis Rep*. 2005;31(ACS-1):1–10.
7. Озерецковский НА. Необходимость унификации текста инструкции по медицинскому применению вакцин. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2019;18(1):112–7. [Ozeretskovskiy NA. The need to unify the text of the instruction on the medical use of vaccines. *Epidemiologia i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(1):112–7 (In Russ.)] https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-1-112-117
8. Daley MF, Shoup JA, Newcomer SR, Jackson ML, Groom HC, Jacobsen SJ, et al. Assessing potential confounding and misclassification bias when studying the safety of the childhood immunization schedule. *Acad Pediatr*. 2018;18(7):754–62. https://doi.org/10.1016/j.acap.2018.03.007
9. Daley MF, Glanz JM, Newcomer SR, Jackson ML, Groom HC, Lugg MM, et al. Assessing misclassification of vaccination status: Implifications for studies of the safety of the childhood immunization schedule. *Vaccine*. 2017;35(15):1873–8. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.02.058

Об авторах / Authors

Гаврилова Наталья Андреевна, канд. биол. наук. *Natalia A. Gavrilova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0003-4624-9189

Устюгова Екатерина Александровна, канд. биол. наук. *Ekaterina A. Ustyugova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-6553-5303

Никитюк Надежда Федоровна, д-р мед. наук, проф. *Nadezhda F. Nikityuk,* Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-9638-0033

Обухов Юрий Иванович. *Yuri I. Obukhov.* **ORCID:** https://orcid.org/0000-0002-7729-9800

Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, проф. *Vladimir P. Bondarev,* Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-6472-6386

Поступила 20.06.2019
После доработки 12.07.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 20 June 2019
Revised 12 July 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 616.915:615.371:614.47:578.7
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-154-160

ШИФР СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
14.01.09 Инфекционные болезни
14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология

CC BY 4.0

Анализ заболеваемости корью в России и проблемы профилактики кори на этапе элиминации

Т. Н. Юнасова[1,*], Д. В. Горенков[1], А. В. Рукавишников[1], А. А. Мовсесянц[1], 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

Обзор посвящен анализу заболеваемости корью на этапе ее элиминации в России. Благодаря исследованиям эпидемиологов были выявлены изменения эпидемического процесса кори в нашей стране. Было показано, что если в довакцинальный период особенности эпидемического процесса обусловлены в основном влиянием, связанным с собственно возбудителем инфекции, то в настоящее время возросло воздействие социального фактора. Увеличилась значимость лиц декретированных профессий в поддержании циркуляции вируса на территории Российской Федерации. Цель работы — проанализировать особенности эпидемического коревого процесса в России, обозначить основные проблемы вакцинопрофилактики кори на текущий момент, привести причины, препятствующие элиминации кори в стране в современных условиях, и возможные пути их устранения. В статье продемонстрирована как роль миграционных процессов внутри страны, так и значение завоза инфекции из сопредельных территорий в возникновении вспышек заболевания. Уделено внимание российским регуляторным документам по борьбе с распространением коревой инфекции среди населения, их последовательной замене и доработке с учетом меняющейся эпидемиологической ситуации и актуальных критериев и директив ВОЗ относительно элиминации инфекции. Обеспечение высококачественного эпидемиологического надзора за инфекцией является необходимым условием для выбора оптимальной тактики вакцинопрофилактики кори. Указаны индикативные показатели качества эпидемиологического надзора. Показана важность молекулярно-генетического мониторинга возбудителя коревой инфекции. Обозначены необходимые мероприятия, направленные на достижение цели по элиминации кори в Российской Федерации с учетом складывающейся в настоящее время эпидемической обстановки.

Ключевые слова: корь; заболеваемость; эпидемиологический надзор; вакцинопрофилактика; элиминация кори

Для цитирования: Юнасова ТН, Горенков ДВ, Рукавишников АВ, Мовсесянц АА, Меркулов ВА. Анализ заболеваемости корью в России и проблемы профилактики кори на этапе элиминации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2019;19(3):154–160. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-154-160

***Контактное лицо:** Юнасова Татьяна Николаевна; Unasova@expmed.ru

Analysis of Measles Incidence in Russia and Problems of Measles Prevention at the Elimination Stage

T. N. Yunasova[1,*], D. V. Gorenkov[1], A. V. Rukavishnikov[1], A. A. Movsesyants[1], 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 St., Moscow 119991, Russian Federation

The review analyses measles incidence in Russia at the elimination stage. Epidemiological studies have revealed changes in the measles epidemic process in Russia. It was shown that whereas the specificity of the epidemic process in the pre-vaccination period was mainly determined by the influence of the infectious agent, lately the impact of the social factor has increased. There was an increase in the impact of decreed groups on maintaining the circulation of the virus in the Russian Federation. The aim of the study was to analyse the specificity of the measles epidemic process in Russia, to identify the major current problems of measles vaccination, to reveal reasons that prevent measles elimination in the country given the present environment, and to formulate possible ways of solving them. The article demonstrates the role of migration processes within the country and infection importation from neighboring territories in the rise of disease outbreaks. The article discusses Russian regulatory documents that are devoted to combating the spread of measles, their consistent replacement and refinement bearing in mind the changing epidemiological situation and the current WHO criteria and guidelines for the infection

elimination. High-level epidemiological surveillance of the infection is a key factor in choosing the optimal strategy of measles vaccination. The article lists indicators of epidemiological surveillance effectiveness. It also highlights the importance of molecular genetic monitoring of the measles pathogen. The authors outline measures that are necessary to achieve measles elimination in the Russian Federation given the current epidemiological situation.
Key words: measles; incidence; epidemiological surveillance; preventive vaccination; measles elimination

For citation: Yunasova TN, Gorenkov DV, Rukavishnikov AV, Movsesyants AA, Merkulov VA. Analysis of measles incidence in Russia and problems of measles prevention at the elimination stage. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2019;19(3):154–160. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-154-160
***Corresponding author:** Tatyana N. Yunasova; Unasova@expmed.ru

Корь — одно из самых высококонтагиозных заболеваний среди всех инфекций, известных человечеству. Так как не существует специфического лечения кори, основным методом борьбы с инфекцией является профилактическая вакцинация[1]. До внедрения массовой вакцинопрофилактики заболеваемость корью вносила существенный вклад в общую смертность во всем мире, особенно среди детского населения, унося около 2,6 млн жизней каждый год[2].

В результате внедрения вакцинации по всему миру с 2000 по 2015 г. смертность от кори в мире снизилась почти на 75%: с 651,6 тыс. случаев в 2000 г. до 134,2 тыс. в 2015 г.[3] [1].

С первых лет массовой иммунопрофилактики кори в нашей стране также отмечались высокие эпидемиологический и иммунологический эффекты данного мероприятия. Если в довакцинальный период, до 1967 г., показатель заболеваемости корью в среднем составлял 933,2 на 100 тыс. населения, то в 2002 г. заболеваемость корью была рекордно низкой — 0,39 на 100 тыс. населения, что на тот момент позволило России присоединиться к Глобальной программе ВОЗ по элиминации кори в отдельных регионах мира, в том числе и в европейском, к 2010 году[4] [2, 3]. Возможность элиминации кори базируется на научных предпосылках, среди которых очень важен тот факт, что вирус кори имеет во всем мире единый антигенный вариант и, несмотря на то что к настоящему времени выявлена циркуляция 24 генотипов, все современные коревые вакцины эффективны против циркулирующих штаммов и являются взаимозаменяемыми[5] [4, 5].

Консультативная группа ВОЗ еще в 1996 г. пришла к заключению, что возможна не только элиминация кори в отдельно взятых странах и регионах, но и ее ликвидация, т. е. глобальное прекращение циркуляции вируса и прекращение вакцинации. В настоящее время наша страна находится на этапе элиминации кори. Элиминация определяется как прерывание циркуляции эндемического вируса кори на большой географической территории в масштабе страны или нескольких стран в течение более 36 месяцев при наличии хорошо функционирующей системы наблюдения. При элиминации необходимо продолжать вакцинопрофилактику и добиваться высокого уровня охвата прививками: как при достижении низкого уровня заболеваемости, так и при полном отсутствии случаев заболевания корью пока существует угроза заноса инфекции[6] [6].

Национальный план мероприятий по элиминации кори в Российской Федерации был рассчитан на 3 этапа: 2002–2004, 2005–2007, 2008–2010 гг. [7–9]. В 2002 г. появились первые территории, свободные от кори. С 2005 г. на 90% территорий Российской Федерации корь не регистрировалась или была на спорадическом уровне. В 2007 г. показатель заболеваемости корью приблизился к критерию элиминации (менее 1 случая на 1 млн населения) и составил 0,11 на 100 тыс. населения. При этом показатель охвата вакцинопрофилактикой практически повсеместно[7] достигал 95% среди детей и 90% среди взрослых декретированных возрастов.

Благодаря всестороннему изучению эпидемического процесса кори отечественными эпидемиологами установлено, что в период 2003–2010 гг. отмечены изменения параметров эпидемического процесса коревой инфекции[8] [2]. Проявились эти изменения в том, что при стабильно высоком коллективном иммунитете корь перестала быть детской инфекцией, ликвидирована смертность от кори; стали преобладать очаги с 1 случаем заболевания; сезонные факторы перестали оказывать влияние на проявление эпидемического процесса во внутригодовой динамике; колебания заболеваемости приобрели случайный характер, изменился социальный состав заболевших. Получены данные, доказывающие необходимость повсеместного введения активного эпидемиологического надзора за корью, и определена его роль на этапе элиминации кори. Обоснованы критерии элиминации кори и индикаторы качества эпидемиологического надзора за этой инфекцией и на их основе в 2010 г. проведена внутренняя сертификация территорий нашей страны как территорий, свободных от эндемичной кори.

Однако после достижения критерия элиминации кори в 2007–2010 гг., в 2011–2013 гг. в Российской Федерации наблюдался рост заболеваемости, что привело к необходимости разработки и внедрения Программы «Профилактика кори и краснухи в период верификации элиминации этих инфекций в Российской Федерации на 2013–2015 годы». Анализ многолетней заболеваемости корью указывал на возможность элиминации кори к 2015 г. Но реализация мероприятий данной программы не позволила достигнуть планируемых показателей в намеченные сроки.

В 2013 г. показатель заболеваемости корью в стране составлял 1,65 на 100 тыс. населения, в 2014 г. — увеличился

[1] Measles vaccines: WHO position paper — April 2017. Wkly Epidemiol. Rec. 2017;(92):205–28.
[2] Measles. WHO. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/measles
[3] Measles vaccines: WHO position paper — April 2017. Wkly Epidemiol. Rec. 2017;(92):205–28.
[4] Global eradication of measles. Report by the Secretariat. WHO; 2010. http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/wha63/a63_18-en.pdf
WHO Epidemiological Brief 14: Measles outbreaks and importation of wild poliovirus in the European Region.
The Measles & Rubella Initiative is a global partnership to lead and coordinate efforts to achieve a world without measles and rubella. The Measles & Rubella Initiative. https://measlesrubellainitiative.org/learn/about-us
[5] Цвиркун ОВ. Эпидемиологический процесс кори в различные периоды вакцинопрофилактики: дис. … д-ра мед. наук. М.; 2014.
Measles vaccines: WHO position paper — April 2017. Wkly Epidemiol. Rec. 2017;(92):205–28.
[6] Национальный план мероприятий по реализации программы «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) (утв. Роспотребнадзором 28.12.2015, Минздравом России 31.12.2015).
[7] Цвиркун ОВ. Эпидемиологический процесс кори в различные периоды вакцинопрофилактики: дис. … д-ра мед. наук. М.; 2014.
[8] Там же.

практически вдвое, до 3,3 на 100 тыс. населения. В 2015 г. наблюдалось снижение уровня заболеваемости корью до 0,58 на 100 тыс. населения, но это было выше критерия элиминации.

В декабре 2015 г., принимая во внимание основные принципы и критерии элиминации кори в рамках Глобального плана действий ВОЗ в отношении вакцин[9], в соответствии с законодательством Российской Федерации, а также с учетом нестабильной ситуации по заболеваемости корью и краснухой в странах европейского региона (ЕР) и ряде субъектов Российской Федерации, была принята и в настоящее время реализуется программа «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» на 2016–2020 гг.[10]

В 2016 г. по данным Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, уровень заболеваемости корью снизился и составил 0,12 на 100 тыс. населения.

В 2017 году по сравнению с 2016 годом, несмотря на профилактические, противоэпидемические и организационные мероприятия, заболеваемость корью выросла в 4,1 раза и составила 0,49 на 100 тыс. населения. Было установлено, что около 90 % заболевших не имели прививки от заболевания.

Наибольшая доля заболевших корью приходится на группу лиц, не привитых против кори или не имевших сведений о прививках (около 90 %)[11] [10]. В возрастной структуре заболевших корью остается высокой доля детей — 55,4 %, среди которых также 90 % составляют дети, не имеющие прививок против кори.

В 2017 г. на 12 территориях нашей страны было выявлено 22 завозных случая кори из 12 государств: Украина (4), Индонезия (4), Турция (3), Италия (2), Таджикистан (2), Германия (1), Кыргызстан (1), Бангладеш (1), Латвия (1), Малайзия (1), Гонконг (1), Таиланд (1). Продолжает наблюдаться неравномерное распределение заболеваемости корью по субъектам страны. Число территорий, где случаи кори не регистрировались, снизилось до 54 по сравнению с 2016 г. (в 2016 г. — 68 территорий). На 26 территориях показатель заболеваемости был менее 1,0 на 100 тыс. населения. Наибольший показатель заболеваемости зарегистрирован в Республике Дагестан (3,3 на 100 тыс. населения), на четырех территориях страны показатель заболеваемости колебался в пределах 1–3 на 100 тыс. населения (Москва — 2,7; Московская область — 2,1; Чеченская Республика — 2,3 и Республика Адыгея — 1,6). Как и в предыдущие годы, эпидемический процесс кори поддерживался за счет лиц, не привитых против кори или не имевших сведений о прививках.

При эпидемическом расследовании очагов выявляется значительная когорта населения, неиммунного к кори[12], в то время как отчетные данные свидетельствуют о высоком уровне охвата населения прививками (95 % и более). Таким образом, возникновение групповой заболеваемости на фоне высоких уровней охвата населения прививками указывало на вероятные ошибки учета непривитого населения или на недостоверность отчетных данных[13].

По статистике ВОЗ, в 2017 г. самый высокий уровень заболеваемости корью был зарегистрирован в Румынии, Италии, Украине, Греции, Германии, Бельгии, Франции, Польше, Сербии, Таджикистане [11, 12]. Тревожные данные принес 2018 год. В 2018 г. корь регистрировалась на американском континенте (Аргентина, Бразилия, Колумбия, Эквадор, Мексика, Перу, Венесуэла, Канада и США) и в 28 странах Европы. По данным ЮНИСЕФ, Украина в 2018 году заняла первое

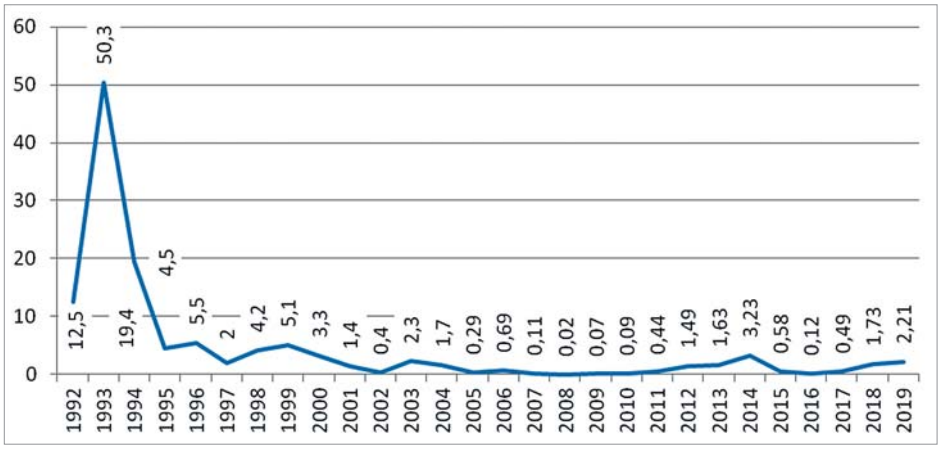


Рис. 1. Динамика заболеваемости корью в Российской Федерации на 100 тыс. населения, 1992–2019 гг. (за 2019 г. представлены данные по заболеваемости за первые 6 месяцев)[14].
Fig. 1. Dynamics of measles incidence in the Russian Federation per 100 thousand people for 1992–2019 (the data for 2019 show the incidence for the first 6 months of the year)[14].

[9] Global vaccine action plan 2011–2020. WHO; 2013.

[10] Национальный план мероприятий по реализации программы «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) (утв. Роспотребнадзором 28.12.2015, Минздравом России 31.12.2015).

[11] Об эпидемической ситуации по кори. Роспотребнадзор; 2018. https://rospotrebnadzor.ru/region/rss/rss.php?ELEMENT_ID=10555

[12] О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: государственный доклад. 2018.

[13] Национальный план мероприятий по реализации программы «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) (утв. Роспотребнадзором 28.12.2015, Минздравом России 31.12.2015).

[14] О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году: государственный доклад. 2014 (источник данных за 1992–2013 гг.).

О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: государственный доклад. 2019 (источник данных за 2008–2018 гг.).

Письмо Роспотребнадзора от 30.07.2019 № 02/10901–2019–32 «Об эпидемиологической ситуации по кори и краснухе в 2018 году». https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/b34/30.07.2019_02_10901_2019_32_popova_a.yu..pdf (источник данных за 2019 г.).

место по темпам роста заболеваемости корью. В 2018 г. ухудшилась эпидемиологическая ситуация по кори и в России. Заболеваемость корью в 2018 г. регистрировалась в 67 субъектах страны, в 2017 г.— в 31 субъекте. Большинство случаев заболевания в 2018 г. также связано с завозом инфекции из-за рубежа. Вирус мигрирует в нашу страну из Турции, Италии и государств постсоветского пространства (Украина, Таджикистан). В 2018 г. зафиксирован 101 случай завоза кори из 21 страны в 22 субъекта Российской Федерации. Наибольшие показатели заболеваемости зарегистрированы в Республике Дагестан, Калужской области, Москве, Московской области. Возрастная структура заболевших представлена детьми до 14 лет, подростками (52,4%) и взрослыми. Показатель заболеваемости корью в 2018 г. составил 1,73 на 100 тыс. населения.

В 2019 г. вспышки инфекции зафиксированы в Москве, Дагестане, Владимирской области, Санкт-Петербурге, Екатеринбурге, Новосибирске. Установлено, что около 88% заболевших не имели прививки от заболевания, 11% были привиты 1 раз. По итогам 6 месяцев текущего года зарегистрирован 3251 случай кори, при этом показатель заболеваемости составил 2,21 на 100 тыс. населения, что в 1,9 раза выше по сравнению с аналогичным периодом предыдущего года. Причиной распространения инфекции продолжает быть массовый отказ от вакцинации, в том числе среди этнических меньшинств. Данные по заболеваемости корью за период 1992–2019 гг. представлены на рисунке 1.

Исследователи отмечают, что если в довакцинальный период особенности эпидемического процесса были обусловлены преимущественно действием биологического фактора, возбудителя инфекции, то в настоящее время возросло влияние социального фактора на эпидемический процесс кори [11]. Увеличилась значимость лиц декретированных профессий в поддержании эпидемического процесса кори. Заболеваемость среди трудовых мигрантов строительных рынков, например, осложнила эпидемиологическую ситуацию в Москве и Московской области; заболеваемость медицинских работников способствовала внутрибольничному заражению и увеличению очагов инфекции. Зарегистрированы заносы инфекции при внутренней миграции маргинальных групп.

На основании анализа заболеваемости корью в России и особенностей эпидемического процесса кори на разных стадиях выполнения Национальных программ элиминации кори в стране принимались и принимаются решения по коррекции вакцинопрофилактики этой инфекции на государственном уровне[15] [13–18].

Введение двукратной иммунизации живой коревой вакциной в 1987 г. усилило результативность иммунопрофилактики, устранив «вакцинальные неудачи», что проявилось в увеличении темпов снижения заболеваемости корью; в 2002 г. появились территории, где заболеваемость не регистрировалась.

Последовательно вносились дополнения в Национальный календарь профилактических прививок в Российской Федерации в части плановой (подчищающей) иммунизации детей от 1 года до 18 лет (включительно) и взрослых в возрасте до 35 лет (включительно), не болевших, не привитых, привитых однократно, не имеющих сведений о прививках против кори и вакцинации в очагах без учета возраста (Постановление Главного государственного врача от 09.03.2004 № 13 «Об усилении мероприятий по профилактике кори»).

Приказом Минздрава России от 16.06.2016 № 370н[16] при иммунизации против кори прививочный возраст пролонгирован до 55 лет (включительно) для лиц из групп риска, предусмотренных Национальным календарем.

В 2019 г. с 1 апреля по 1 октября проводятся мероприятия по подчищающей иммунизации, т. е. проводится массовая прививочная кампания против кори населения из групп риска, трудовых мигрантов и вахтовых рабочих[17]. По состоянию на конец июня план по дополнительной вакцинации против кори исполнен более чем на 70%[18]. Плановые профилактические мероприятия в соответствии с национальным календарем профилактических прививок должны проходить в полном объеме, в том числе среди труднодоступных групп населения, к которым относятся географически разобщенные группы, культурные и этнические меньшинства.

Индикаторные возрастные группы для проведения серологического мониторинга дополнены группами лиц 25–29 и 30–35 лет с прививочным анамнезом и старше 40 лет без прививочного анамнеза.

Таким образом, четкий порядок действий, определенный в рамках программы «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.)», последовательное совершенствование тактики вакцинопрофилактики кори создает надежные предпосылки эффективного управления эпидемическим коревым процессом в нашей стране в соответствии со Стратегическим планом ВОЗ по глобальной ликвидации кори и краснухи 2011–2020 гг.

Для дальнейшего успешного выполнения задач программы должны быть достигнуты индикативные показатели качества эпидемиологического надзора, установленные ВОЗ для стран европейского региона:

- уровень заболеваемости должен быть менее 1 на 1 млн населения;
- уровень охвата иммунизацией против кори декретированных групп населения — не менее 95%;
- отсутствие циркуляции эндемичных вирусов кори не менее чем в течение 36 месяцев должно быть подтверждено молекулярно-генетическим типированием изолятов от больных[19].

ЕР ВОЗ с населением около 900 млн человек является одним из шести регионов ВОЗ и состоит из 53 стран. ВОЗ подтвердила, что 70% стран ЕР добились ликвидации кори, однако недавнее возрождение кори в Европе выявило проблемы с достижением и поддержанием ликвидации кори. Все страны ЕР должны выполнять программы иммунизации для достижения и поддержания высокого иммунитета населения, поддержания высококачественного надзора и обеспечения готовности

[15] Русакова ЕВ. Вакцинопрофилактика управляемых инфекций и пути ее оптимизации: автореф. дис. … д-ра мед. наук. М.; 1993.

[16] Приказ Минздрава России от 16.06.2016 № 370 н «О внесении изменений в приложение № 1 и 2 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 21.03.2014 № 125 н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

[17] Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 06.03.2019 № 2 «О проведении подчищающей иммунизации против кори на территории Российской Федерации».

[18] План по дополнительной вакцинации против кори исполнен более чем на 70 процентов. Роспотребнадзор; 2018. https://rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=12165&sphrase_id=1747344

[19] Национальный план мероприятий по реализации программы «Элиминация кори и краснухи в Российской Федерации» (2016–2020 гг.) (утв. Роспотребнадзором 28.12.2015, Минздравом России 31.12.2015).

к вспышкам и оперативного реагирования на них, что поможет выполнить европейский план действий по вакцинации и достичь будущих всеобщих целей по элиминации и ликвидации кори.

Выполнение странами ЕР ВОЗ названных задач чрезвычайно важно также для ликвидации кори в нашей стране, так как вирус кори, как отмечалось выше, завозится к нам из сопредельных государств и уровень заболеваемости корью поддерживается за счет миграции восприимчивых контингентов.

Следует особо подчеркнуть, что критерием элиминации кори является прерывание передачи эндемической кори в течение более чем 36 месяцев при наличии хорошо функционирующей системы наблюдения.

Лаборатория Национального научно-методического центра по надзору за корью на базе ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, а также молекулярные биологи ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора систематически проводят исследования по генотипированию диких штаммов вируса кори, выделенных от заболевших, в рамках мониторинга их циркуляции.

В 2017 г. генотипированы вирусы от 200 заболевших корью из 24 субъектов Российской Федерации. Показано, что на протяжении 2017 года в Российской Федерации наблюдалась циркуляция штаммов вируса кори генотипов D8 (32 %), H1 (4 %) и B3 (64 %), представленных разными генетическими вариантами, в большинстве своем ранее на территории России активно не циркулировавшими.

Вспышка кори в Республике Дагестан, начавшаяся в декабре 2016 г., сопровождалась местной циркуляцией штаммов вируса генетической линии D8 «MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11», а также завозами на другие территории страны (Свердловская область, Кабардино-Балкарская Республика, Астраханская область, Республика Башкортостан, Московская область, Москва, Ханты-Мансийский автономный округ). Штамм данной линии в последний раз был изолирован в Ярославской области в декабре 2017 года.

В дальнейшем на протяжении 2017 года штаммы линии «MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11» периодически изолировались в разных субъектах Российской Федерации, однако регистрировались либо спорадические случаи, либо случаи групповых заболеваний с ограниченным числом заболевших. По данным эпидемиологического расследования в ряде регионов была продемонстрирована связь заболеваемости с завозами инфекции из Чеченской Республики и Республики Дагестан.

Штаммы вируса кори генетической линии D8 «MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11» в 2016–2017 гг. из всего Европейского региона ВОЗ продолжительно циркулировали только на территории России[20].

В 2017 г. в Москве и Красноярском крае были изолированы штаммы генотипа H1, относящиеся к генетической линии китайского происхождения «MVs/Shandong.CHN/13.15/18». Помимо Китая и Монголии, штаммы линии H1 циркулировали в Республике Таджикистан в период вспышки кори 2016–2017 гг., откуда они, вероятно, могли быть завезены в Российскую Федерацию.

В 2017 г. в России впервые были выделены также штаммы генотипа B3 генетической линии «MVs/Dublin.IRL/8.16/» африканского происхождения. Данный генетический вариант вируса кори являлся одним из доминировавших в ЕР ВОЗ на протяжении последних двух лет, наиболее масштабные вспышки инфекции, обусловленные его циркуляцией, в 2017 г. были зарегистрированы в Италии и Румынии. Подавляющее большинство штаммов данной линии вируса были изолированы от пациентов из разных очагов инфекции в Москве, что указывает на единый характер вспышки инфекции.

Учитывая активную циркуляцию штаммов вируса генетической линии B3 «MVs/Dublin.IRL/8.16/» в ряде стран ЕР ВОЗ, их продолжительная циркуляция в Москве и распространение на другие территории страны могут быть обусловлены повторным завозом инфекции.

Основываясь на полученных данных, не представляется возможным исключить наличие эндемичной циркуляции (продолжительностью более 12 месяцев по критерию ВОЗ) в Российской Федерации штаммов линии вируса D8 «MVs/Frankfurt Main.DEU/17.11» на протяжении 2017–2018 гг. с вовлечением в данную циркуляцию в первую очередь Республики Дагестан и Чеченской Республики, что в итоге создает постоянный риск завоза инфекции на другие территории страны и не позволяет сделать вывод о статусе России как страны, свободной от эндемичной кори[21].

По результатам изучения изолятов, выделенных от больных в 2018 г. на 24 административных территориях Российской Федерации, установлено, что в России продолжают циркулировать генотип D8 и B3 и их субварианты. Циркуляция штаммов данной линии в России на протяжении 2016–2018 гг. расценивается как восстановление эндемичного характера циркуляции вирусов.

Таким образом, в ЕР ВОЗ в целом, включая страны СНГ и Российской Федерации, циркулируют одни и те же генетические варианты вируса кори, это означает, что регион является единым эпидемическим пространством.

Сочетание таких факторов, как высокая вероятность завоза инфекции, наличие в популяции восприимчивых лиц и возможное наличие эндемического очага инфекции, обусловливает сохранение риска распространения кори на территории Российской Федерации.

Выводы

Анализ заболеваемости корью в России и особенностей эпидемиологического процесса этой инфекции позволяет сделать следующие выводы, касающиеся путей элиминации кори в нашей стране на современном этапе.

1. Успехи вакцинопрофилактики кори, которая проводится в нашей стране более 50 лет, предопределили возможность участия Российской Федерации в выполнении Стратегического плана ВОЗ по глобальной ликвидации кори и краснухи (2016–2020 гг.) и Национальной программы элиминации кори (2016–2020 гг.).

2. Вакцинация — единственный способ защиты от кори. Эксперты ВОЗ считают, что все вакцины против кори, существующие на мировом рынке на основе всех известных вакцинных штаммов, безопасны, эффективны и могут использоваться на основе взаимозаменяемости в программах иммунизации населения против кори. Современные отечественные живые вакцины против кори как моновалентная, так и паротитно-

[20] Заболеваемость корью и краснухой в России за 2017 год (по региональным центрам). Информационный бюллетень № 28. М.; 2018. http://gabrich.ru/files/pdf/kor-2017.pdf

[21] О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: государственный доклад. 2018.
Заболеваемость корью и краснухой в России за 2018 год (по региональным центрам). Информационный бюллетень № 29. М; 2019. http://gabrich.ru/assets/files/kor-2018.pdf

коревая вакцина, соответствующие международным требованиям к качеству, являются высокоэффективными.

3. Основная причина эпидемического неблагополучия в отношении заболевания корью в нашей стране — снижение охвата плановой иммунизацией против кори, рост числа отказов от вакцинации.

4. Для достижения и поддержания высокого популяционного иммунитета как при низкой заболеваемости корью, так и при отсутствии случаев заболевания необходимо обеспечить 95–98 % и более охват населения двумя дозами коревой вакцины; регулярно проводить подчищающую вакцинацию в регламентированных группах и субъектах Российской Федерации и другие дополнительные кампании по иммунизации восприимчивых групп населения.

5. Следует обеспечить высококачественный эпидемиологический надзор за корью и молекулярно-генетическое типирование изолятов для идентификации эндемичных вирусов, что является необходимым при верификации статуса элиминации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Конфликт 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. Артемова ИВ, Куличенко ТВ. Эпидемия кори. Реальна ли угроза? *Вопросы современной педиатрии*. 2017;16(5):358–61. [Artemova IV, Kulichenko TV. A measles outbreak. Is the threat real? *Voprosy sovremennoj pediatrii = Current Pediatrics*. 2017;16(5):358–61 (In Russ.)] https://doi.org/10.15690/vsp.v16i5.1799
2. Цвиркун ОВ, Лыткина ИН, Ежлова ЕБ, Тихонова НТ, Герасимова АГ, Тураева НВ. Влияние специфической профилактики против кори на уровень и структуру годовой заболеваемости в Российской Федерации. *Инфекционные болезни*. 2011;9(1):23–7. [Tsvirkun OV, Lytkina IN, Ezhlova EB, Tikhonova NT, Gerasimova AG, Turaeva NV. An effect of specific measles prevention on the level and structure of annual morbidity in the Russian Federation. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*. 2011;9(1):23–7 (In Russ.)]
3. Strebel PM, Cochi SL, Hoekstra E, Rota PA, Featherstone D, Bellini WJ, Katz SL. A world without measles. *J Infect Dis*. 2011;204(Suppl 1):S1–3. https://doi.org/10.1093/infdis/jir111
4. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed. (Vol. 2). McGraw-Hill Education; 2015.
5. Бектимиров ТА. Вакцинопрофилактика кори на современном этапе. *Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики*. 2001;(1):13–5. [Bektimirov TA. Measles vaccination at the present stage. *Vaktsinatsiya. Novosti vaktsinoprofilaktiki = Vaccination. Vaccination news*. 2001;1(13):13–5 (In Russ.)]
6. Тихонова НТ, Герасимова АГ, Мамаева ТА. Программа элиминации кори в Российской Федерации. *Вакцинация. Новости вакцинопрофилактики*. 2002;(5):8–11. [Tikhonova NT, Gerasimova AG, Mamaeva TA. Measles elimination program in Russian Federation. *Vaktsinatsiya. Novosti vaktsinoprofilaktiki = Vaccination. Vaccination news*. 2002;(5):8–11 (In Russ.)]
7. Алешкин ВА, Тихонова НТ, Герасимова АГ. Перспективы элиминации кори в России. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2002;6:8–11. [Aleshkin VA, Tikhonova NT, Gerasimova AG. Perspectives of measles elimination in Russia. *Epidemiologia i vakcinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2002;6:8–11 (In Russ.)]
8. Онищенко ГГ, Ежлова ЕБ, Мельникова АА. Актуальные вопросы организации вакцинопрофилактики в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011;(5):110–4. [Onischenko GG, Ezhlova EB, Melnikova AA. Actual problems of vaccinoprophylaxis management in Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2011;(5):110–4 (In Russ.)]
9. Тихонова НТ, Лазикова ГФ, Герасимова АГ, Цвиркун ОВ, Чава ОО, Мамаева ТА. Перспективы реализации Программы ликвидации кори в России. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2005;(1):19–22. [Tikhonova NT, Lazikova GF, Gerasimova AG, Tsvirkun OV, Chava OO, Mamaeva TA. Perspectives of implementation of measles elimination program in Russia. *Epidemiologia i vakcinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2005;(1):19–22 (In Russ.)]
10. Юминова НВ, Зверев ВВ. Элиминация кори в России. *Медицинская картотека*. 2003;(7/8):24–5. [Yuminova NV, Zverev VV. Measles elimination in Russia. *Meditsinskaya kartoteka = Medical file*. 2003;(7/8):24–5 (In Russ.)]
11. Цвиркун ОВ, Тихонова НТ, Ющенко ГВ, Герасимова АГ. Эпидемический процесс кори в разные периоды ее вакцинопрофилактики. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2015;14(2):80–7. [Tsvirkun OV, Tikhonova NT, Yushchenko GV, Gerasimova AG. Measles epidemic process in various vaccinal periods. *Epidemiologia i vakcinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015;14(2):80–7 (In Russ.)] https://doi.org/10.31631/2073-3046-2015-14-2-80-87
12. Zimmerman LA, Muscat M, Singh S, Ben Mamou M, Jankovic D, Datta S, et al. Progress toward measles elimination — European Region, 2009–2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2019;68(17):396–401. https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6817a4
13. Подунова ЛГ, Тясто АС, Пургаев ЕИ, Петина ВС. Охват детей, подростков и взрослых Российской Федерации профилактическими прививками в 1994–1995 гг. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 1997;(1):20–3. [Podunova LG, Tyasto AS, Purgaev EI, Petina VS. Coverage of preventive vaccination of children, adolescents and adults in Russian Federation in 1994–1995. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*. 1997;(1):20–3 (In Russ.)]
14. Болотовский ВМ, Геликман БГ, Титова НС. Иммунологическая эффективность повторной прививки против кори детей, оставшихся серонегативными после вакцинации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1984;(7):100–6. [Bolotovsky VM, Gelikman BG, Titova NS. Immunological efficiency of revaccination against measles in children who remained seronegative after primary vaccination. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1984;(7):100–6 (In Russ.)]
15. Болотовский ВМ, Титова НС, Геликман БГ, Загарьянц АИ. Тактика вакцинопрофилактики кори на современном этапе. В кн.: *V Всероссийский Съезд микробиологов и эпидемиологов: тезисы докладов*. М.; 1985. С. 112–5. [Bolotovsky VM, Titova NS, Gelikman BG, Zagariyants AI. Measles vaccination tactics at the present stage. In:

The 5th All-Russian congress of microbiologists and epidemiologists: Summary of reports. Moscow; 1985. P. 112–5 (In Russ.)]

16. Дешевой СЭ, Рыкушин ЮП, Овсянникова ИВ, Малыхина РМ, Погорелый ЮА, Виткова ОА. Эпидемиологическая эффективность массовой ревакцинации против кори. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1988;(8):69–73. [Deshevoy SE, Rykushin YuP, Ovsyannikova IV, Malykhina RM, Pogorely YuA, Vitkova OA. Epidemiologic effectiveness of mass revaccination against measles. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1988;(8):69–73 (In Russ.)]
17. Покровский ВИ. Пути оптимизации эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями в стране. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1986;(11):3–7. [Pokrovsky VI. Ways of optimizing national infection surveillance. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1986;(11):3–7 (In Russ.)]
18. Покровский ВИ, Болотовский ВМ, Литвинов СК. Современные аспекты стратегии и тактики вакцинопрофилактики инфекционных болезней. В кн.: *XVII съезд Всесоюзного общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов: тезисы докладов*. М.; 1989. С. 94–6. [Pokrovsky VI, Bolotovsky VM, Litvinov SK. Modern aspects of the strategy and tactics of vaccine prophylaxis of infectious diseases. In: *The 17th Congress of All-Russian scientific society of microbiologists, epidemiologists and parasitologists: Summary of reports*. Moscow; 1989. P. 94–6 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Юнасова Татьяна Николаевна, канд. биол. наук. *Tatyana N. Yunasova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** http://orcid.org/0000-0002-1606-942X

Горенков Дмитрий Витальевич. *Dmitry V. Gorenkov.* **ORCID:** https://orcid.org/0000-0003-0940-8080

Рукавишников Андрей Владимирович, канд. биол. наук. *Andrey V. Rukavishnikov,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** http://orcid.org/0000-0003-4536-2040

Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, проф. *Artashes A. Movsesyants,* Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** http://orcid.org/0000-0003-2132-0962

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф. *Vadim A. Merkulov,* Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** http://orcid.org/0000-0003-4891-973X

Поступила 17.07.2019
После доработки 02.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 17 July 2019
Revised 2 August 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 615.076:57.083.138.6:579.887
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168

ШИФР 03.01.06 СПЕЦИАЛЬНОСТЬ Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

CC BY 4.0

Совершенствование методики оценки качества питательной среды для выявления микоплазм

С. М. Суханова, З. Е. Бердникова*, А. С. Тихонова

*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*

Актуальной проблемой безопасности биологических лекарственных препаратов (БЛП) остается контаминация микоплазмами, источниками которой могут быть ткани и органы доноров, вирусные сборы, компоненты питательных сред, трипсин, сыворотки крови животных, а также персонал, занимающийся изготовлением медицинских препаратов. В настоящее время в связи с расширением спектра выпускаемых БЛП возрастает необходимость повышения чувствительности и специфичности методик их анализа. В Российской Федерации оценку качества готовой формы препарата на присутствие микоплазм микробиологическим (культуральным) методом проводят с использованием сложных питательных сред, чувствительность которых зависит от качества используемого белкового сырья, ингредиентов и реактивов. Ростовые свойства сред, согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд., определяют с помощью одного тест-штамма — *Mycoplasma arginini* G230 (ОСО *M. arginini* G230). Цель работы — анализ современных отечественных и зарубежных требований к оценке качества питательной среды, используемой в испытании на присутствие микоплазм, для актуализации и совершенствования методики ее оценки в Российской Федерации. Установлено, что безусловным преимуществом рекомендаций отечественной фармакопеи является возможность применения полужидкой питательной среды, не требующей создания специальных аэробных или анаэробных условий инкубации, позволяющей определять количество колоний и титр микоплазм в испытуемом материале при подтверждении ее ростовых свойств с помощью ОСО тест-штамма *M. arginini* G230. Выявленные в ходе анализа отличия отечественных и зарубежных требований к оценке качества питательной среды позволили разработать предложения по совершенствованию отечественной методики, заключающиеся в расширении спектра используемых тест-штаммов и создании соответствующих стандартных образцов.

Ключевые слова: биологические лекарственные препараты; контаминация микоплазмами; безопасность; отраслевой стандартный образец; оценка чувствительности питательной среды; экспертиза качества; *Mycoplasma; Acholeplasma*

Для цитирования: Суханова СМ, Бердникова ЗЕ, Тихонова АС. Совершенствование методики оценки качества питательной среды для выявления микоплазм. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(3):161–168. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168

***Контактное лицо:** Бердникова Зинаида Евтропиевна; Berdnikova@expmed.ru

Ways to Improve Quality Control of Culture Medium Used for Mycoplasma Detection

S. M. Sukhanova, Z. E. Berdnikova*, A. S. Tikhonova

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

An urgent safety concern associated with biological products is contamination with mycoplasmas, which may originate from donor tissues and organs, virus harvests, culture medium components, trypsin, animal blood serum, as well as be transmitted by personnel involved in the manufacture of medicines. Currently, due to an increase in the range of biologicals available, there is a need for more sensitive and specific test methods. In the Russian practice, microbiological (culture-based) testing of finished pharmaceutical products for mycoplasma contamination is performed using complex culture media whose sensitivity depends on the quality of proteins, ingredients, and reagents used. Growth promotion properties of the media are determined according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed., using a single test strain — *Mycoplasma arginini* G230 (*M. arginini* G230 industry reference material). The aim of the study was to analyse current Russian and foreign requirements for the quality control of culture media that are used for mycoplasma detection, in order to update and improve the quality control procedure in Russia. It was demonstrated that a compelling advantage of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation is the possibility of using a semi-liquid culture medium which does not require special aerobic or anaerobic incubation conditions and allows for quantification of mycoplasma colonies and determination of mycoplasma titre in culture medium while testing its growth promotion properties using reference *M. arginini* G230 test strain. The analysis revealed some differences in Russian and foreign requirements for quality evaluation of culture media. These differences were taken into account when developing recommendations for improvement of the Russian test procedure, i.e. enlarging the range of test strains used and development of respective reference standards.

Key words: biological products; mycoplasma contamination; safety; industry reference material; assessment of culture medium sensitivity; quality control

For citation: Sukhanova SM, Berdnikova ZE, Tikhonova AS. Ways to improve quality control of culture medium used for mycoplasma detection. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(3):161–168. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168
*Corresponding author: Berdnikova Zinaida Evtropievna; Berdnikova@expmed.ru

Проблема контаминации микоплазмами биологических лекарственных препаратов (БЛП) остается актуальной не только для производителей, но и для потребителей лекарственных средств. Широкое распространение микоплазм обусловлено их способностью использовать в качестве источников питания разнообразные минеральные и органические соединения. Микоплазмы растут как на искусственных средах, так и паразитируя на поверхности мембран и внутри клеток млекопитающих и птиц[1]. Помимо заболеваний у человека микоплазмы могут вызывать инфекционные поражения у животных, ткани и органы которых используются в производстве БЛП. Опасность применения контаминированных БЛП состоит в том, что в организме человека микоплазмы способны вызывать острые респираторные и урогенитальные заболевания, артрит и иммунодефицитные состояния, в том числе онкогенные [1]. Наибольшее беспокойство вызывает тот факт, что, обладая высокой специфичностью в отношении вида естественного хозяина, микоплазмы оказываются неспецифичными в отношении вида клеток, инфицируемых *in vitro*, что приводит к загрязнению культур клеток-субстратов производства БЛП. Микоплазмы являются основными контаминантами клеток, используемых для производства БЛП. Около 95 % контаминации приходится на *Mycoplasma arginini, M. fermentans, M. hominis, M. hyorhinis, M. orale* и *Acholeplasma laidlawii* [2–4]. Риски, возникающие при использовании потенциально опасного сырья, обуславливают необходимость проведения тщательного входного контроля, кроме того, обнаружение контаминирующего агента в процессе производства или на стадии готового препарата до розлива (полуфабриката) неизбежно связано не только с финансовыми затратами, но и с проведением дополнительных мероприятий, направленных на выяснение причин и источника заражения.

Для выпуска безопасных и эффективных лекарственных препаратов, получаемых с использованием первичных и перевиваемых клеточных культур различного происхождения, сыворотка крови животных, вирусных штаммов, трипсина и других компонентов биологического происхождения, исключительно важным является использование надежных и чувствительных методов контроля, позволяющих выявлять источники микоплазменной контаминации [5]. В настоящее время для обнаружения микоплазм в исследуемом материале используют прямые и косвенные методы. Наиболее чувствительным, простым и экономичным методом, рекомендованным для оценки качества препарата, является микробиологический (культуральный) метод, основанный на культивировании исследуемого образца в селективных жидких и агаровых питательных средах в условиях, учитывающих потребности соответствующих видов микоплазм. В Российской Федерации, согласно требованиям Государственной фармакопеи XIV изд., испытание на присутствие микоплазм[2] микробиологическим (культуральным) методом проводится с использованием питательной среды лабораторного приготовления, чувствительность которой определяют с помощью отраслевого стандартного образца (ОСО) тест-штамма *M. arginini* G230. Данный вид является возбудителем микоплазмоза у животных. Необходимо отметить, что особенностью современного производства лекарственных средств является расширение спектра препаратов, действующее вещество которых получено из различных биологических источников и для оценки качества которых используются биологические методы. Вследствие чего достоверная оценка качества и безопасности используемых для этих целей материалов, характеризующихся не только разнообразием и вариабельностью свойств, но и возможным загрязнением, обуславливает актуальность и необходимость повышения чувствительности и специфичности методик их тестирования.

Цель работы — анализ современных отечественных и зарубежных требований к оценке качества питательной среды, используемой в испытании на присутствие микоплазм, для актуализации и совершенствования методики ее оценки в Российской Федерации.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить данные литературы о рисках микоплазменной контаминации в производстве БЛП;
- провести сравнительный анализ требований Государственной фармакопеи Российской Федерации и ведущих зарубежных фармакопей к проведению испытания на присутствие микоплазм, а также к порядку подтверждения ростовых свойств питательных сред, используемых для проведения испытания на присутствие микоплазм культуральным (микробиологическим) методом;
- определить основные направления совершенствования методики оценки качества питательной среды, используемой для проведения испытания на присутствие микоплазм.

Для решения поставленных задач в работе использовали материалы ведущих зарубежных фармакопей, в том числе Европейской фармакопеи (ЕФ)[3], фармакопеи США (ФСША)[4], Государственной фармакопеи Республики Беларусь (ГФ РБ)[5], технических докладов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)[6], а также Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. (ГФ РФ)[7], в которых регламентированы требования к испытанию на присутствие микоплазм.

Микоплазмы представляют собой мельчайшие прокариотические организмы (0,3–0,8 мкм), лишенные ригидной клеточной стенки и окруженные цитоплазматической мембраной. Они со-

[1] Борхсениус СН, Чернова ОА. Микоплазмы. Л.: Наука; 1989.
[2] Общая фармакопейная статья 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2; 2018.
[3] 2.6.7. Mycoplasmas. European Pharmacopoeia 9th ed.
[4] <63> Mycoplasma Tests. USP 41–NF 36; 2018.
[5] 2.6.7. Микоплазмы. Государственная фармакопея Республики Беларусь. II изд. Т. 1; 2013.
[6] WHO Expert committee on biological standardization. WHO Technical Report Series 872, 1998.
[7] Общая фармакопейная статья 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2; 2018.

держат рибосомы, РНК, ДНК и способны к независимому развитию и воспроизводству. Размеры микоплазм приближаются к размерам крупных вирусов, но, в отличие от них, процесс воспроизводства микоплазм может протекать вне живых клеток. Микоплазмы являются мембранными паразитами, конкурирующими с клетками организма-хозяина за аминокислоты, сахара, нуклеиновые кислоты, и, препятствуя их нормальному метаболизму, вызывают в системе *in vitro* различные хромосомные нарушения. Продукты метаболизма микоплазм (перекись водорода, супероксидные радикалы) оказывают токсическое и гемолитическое действие на мембраны клеток и эритроциты. Микоплазмы, способные прикрепляться к поверхности клеток хозяина, приводят к колонизации тканей и развитию воспалительных процессов [6]. Некоторые виды микоплазм потенциально патогенны для человека, животных и птиц. К их числу следует отнести *M. mycoides* — возбудитель пневмонии крупного и мелкого рогатого скота, *M. agalactiae* — возбудитель ревматоидного синдрома мелкого рогатого скота, *M. pneumonia* — возбудитель острых респираторных заболеваний и первичной атипичной пневмонии человека, обладающий высокой гемолитической активностью. Достаточно часто микоплазменное инфицирование заканчивается хроническим заболеванием [7]. В таблице 1 представлены данные о патогенности для человека наиболее часто встречающихся видов микоплазм.

Широкое распространение микоплазмозов у крупного рогатого скота, сопровождающихся длительной персистенцией возбудителя в крови и органах переболевших животных, приводит к тому, что органы, ткани и сыворотки крови часто становятся источниками контаминации микоплазмами питательных сред и клеточных культур, используемых для репликации вирусов при производстве БЛП [8, 9]. В таблице 2 представлены примеры вакцин, при производстве которых используются клеточные культуры различных животных и человека.

Зараженные микоплазмами клеточные культуры, сыворотка крови животных, используемая в качестве компонента питательных сред для выращивания клеточных культур, трипсин, вспомогательные материалы и производственный персонал остаются основными источниками контаминации [10]. Особую настороженность вызывает широкое распространение микоплазмоносительства, протекающего без внешне выраженных клинических проявлений. Так, например, непатогенный вид *M. orale*, обитающий в норме в полости рта человека, является наиболее часто встречающимся контаминантом клеточных культур (до 70 %). Не менее распространенный контаминант *A. laidlawii* (до 30 %) обнаруживается почти у всех видов животных, включая птиц, домашний скот, а также у больных и здоровых людей. В настоящее время пристальное внимание ученых привлекает также изучение феномена формирования устойчивости *M. orale* и *A. laidlawii* к антибиотикам[8]. Анализ данных литературы указывает на разнообразные пути и источники заражения клеточных культур микоплазмами, а также широкий спектр видов и штаммов микоплазм, выявляемых при микоплазмозах человека и животных.

Несмотря на высокую распространенность, выявление микоплазм в исследуемом материале представляет собой достаточно сложную задачу в связи с наличием у них особых требований к питательным веществам и условиям культивирования. Среды должны содержать не только традиционные источники азота, углерода, но и различные витамины, аминокислоты и другие богатые питательными веществами компоненты биологического происхождения. Ростстимулирующими свойствами для большинства микоплазм обладают холестерин и другие липиды, известны также аргининзависимые и глюкозоферментирующие виды микоплазм. Тем не менее встречаются микоплазмы, в частности принадлежащие к роду *Acholeplasma,* которые не требуют для своего роста стерола. Являясь строгими аэробами либо облигатными анаэробами, большинство микоплазм лучше растут в атмосфере, содержащей углекислый газ и пониженную концентрацию кислорода. Учитывая требовательность микоплазм к условиям культиви-

Таблица 1. Данные о патогенности для человека некоторых видов микоплазм [7]
Table 1. Data on pathogenicity of some Mycoplasma species for humans [7]

Вид микоплазм Mycoplasma species	Локализация Site	Характер инфекционного процесса Nature of the infectious process
Mycoplasma orale	Респираторный тракт Respiratory tract	Воспаление верхних дыхательных путей Upper respiratory tract infection
Acholeplasma laidlawii	Урогенитальный и респираторный тракты Urogenital and respiratory tracts	Воспалительные заболевания тазовых органов, верхних дыхательных путей Pelvic and upper airway inflammatory diseases
M. pneumoniae	Респираторный тракт Respiratory tract	Воспаление верхних дыхательных путей, трахеобронхит, атипичная пневмония, нереспираторные проявления Upper respiratory tract infection, tracheobronchitis, atypical pneumonia, nonrespiratory symptoms
M. hominis	Урогенитальный тракт Urogenital tract	Пиелонефрит, воспалительные заболевания тазовых органов, послеродовая лихорадка, пороки развития плода Pyelonephritis, pelvic inflammatory diseases, postpartum fever, fetal congenital abnormalities
M. genitalium	Урогенитальный тракт Urogenital tract	Негонококковый уретрит, простатит (урогенитальный микоплазмоз) Non-gonococcal urethritis, prostatitis (urogenital mycoplasma infection)
M. fermentans	Урогенитальный и респираторный тракты Urogenital and respiratory tracts	Воспалительные заболевания респираторного тракта, ревматоидный артрит Respiratory tract inflammation diseases, rheumatoid arthritis
Ureaplasma urealyticum	Урогенитальный тракт Urogenital tract	Негонококковый уретрит, простатит, сальпингит, вагинит, мочекаменная болезнь. Бесплодие, преждевременные роды, спонтанные аборты, мертворождение Non-gonococcal urethritis, prostatitis, salpingitis, vaginitis, kidney stone disease. Infertility, preterm delivery, spontaneous abortion, still birth

[8] Борхсениус СН, Чернова ОА. Микоплазмы. Л.: Наука; 1989.

Таблица 2. Клеточные культуры — субстраты производства вирусных вакцин[9]
Table 2. Cell cultures used as substrates for viral vaccines production[9]

Наименование иммунобиологического лекарственного препарата Immunobiological product	Предприятие-производитель (страна) Manufacturing company (country)	Клеточные культуры — субстраты производства Cell cultures — production substrates
Вакцина коревая культуральная живая Live, cell-derived measles vaccine	АО «НПО Микроген» (Россия) AO «Scientific and Production Association for Immunological Preparations «Microgen» (Russia)	Первичная культура клеток эмбрионов перепелов Primary quail embryo cells
Вакцина паротитная культуральная живая Live, cell-derived mumps vaccine	АО «НПО Микроген» (Россия) AO «Scientific and Production Association for Immunological Preparations «Microgen» (Russia)	
Вакцина паротитно-коревая культуральная живая Live, cell-derived measles and mumps vaccine	АО «НПО Микроген» (Россия) AO «Scientific and Production Association for Immunological Preparations «Microgen» (Russia)	
Вакцина клещевого энцефалита культуральная сухая Dried, cell-derived tick-borne encephalitis vaccine	ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Россия) Chumakov FSC R&D IBP RAS (Russia)	Первичная культура клеток эмбрионов кур Primary chick embryo cells
КОКАВ вакцина антирабическая концентрированная KOKAB concentrated antirabies vaccine	АО «НПО Микроген» (Россия) AO «Scientific and Production Association for Immunological Preparations «Microgen» (Russia)	Первичная культура клеток почек сирийских хомячков Primary Syrian golden hamster kidney cells
Вакцина против краснухи культуральная живая Live, cell-derived rubella vaccine	АО «НПО Микроген» (Россия) AO «Scientific and Production Association for Immunological Preparations «Microgen» (Russia)	Диплоидная культура клеток легкого эмбриона человека MRC-5 MRC-5, diploid human cell culture line composed of fetal lung fibroblasts
Хаврикс® (вакцина против гепатита А инактивированная) HAVRIX® (Hepatitis A vaccine, inactivated)	ГлаксоСмитКляйн Байолоджикалз С. А. (Бельгия) GlaxoSmithKline Biologicals S. A. (Belgium)	
Аваксим 80 (вакцина для профилактики гепатита А инактивированная, адсорбированная) AVAXIM 80 (Hepatitis A vaccine, inactivated, adsorbed)	Санофи Пастер С. А. (Франция) Sanofi Pasteur S. A. (France)	
Имовакс Полио® (вакцина для профилактики полиомиелита инактивированная) IMOVAX Polio® (Polio vaccine, inactivated)	Санофи Пастер С. А. (Франция) ФГБНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Россия) Sanofi Pasteur S. A. (France) Chumakov FSC R&D IBP RAS (Russia)	Перевиваемая культура клеток почки африканской зеленой мартышки Vero Vero, continuous cell line derived from kidney tissue of the African green monkey
Геп-А-ин-Вак (вакцина гепатита А культуральная очищенная концентрированная адсорбированная инактивированная жидкая) HEP-A-IN-VAC (Hepatitis A cell-derived, purified vaccine, concentrated, adsorbed, inactivated, liquid)	АО «Вектор БиАльгам» (Россия) AO «Vektor BiAlgam» (Russia)	Перевиваемая культура клеток почки африканской зеленой мартышки 4647 4647, African green monkey kidney cell line

рования, в 1975 году Комитет экспертов ВОЗ[10] для проведения испытания на отсутствие микоплазм рекомендовал подбирать питательные среды в зависимости от определенных условий, например от тканей, в которых размножался вирус, или от животных — продуцентов сывороток крови, или от необходимых для роста потенциальных контаминантов веществ, например дрожжевого экстракта. Для обеспечения пищевых потребностей микоплазм было предложено использовать среды, содержащие фракции сывороток крови, богатые липидами (стеролом и фосфолипидами). Ростовые свойства этих сред в каждом испытании рекомендовано оценивать с помощью контрольных культур (стеролзависимых и стеролнезависимых) штаммов микоплазм.

В нашей стране проведение испытаний иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) на присутствие микоплазм было начато в конце 1960-х — начале 1970-х годов. Особенно сложной оказалась задача разработки состава питательной среды, предназначенной для выявления микоплазм в исследуемых образцах. Наибольшее признание и распространение получила предложенная Г. Я. Каган и И. В. Раковской

[9] Государственный реестр лекарственных средств.
[10] Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов. Серия технических докладов ВОЗ 530; 1975.

среда, питательной основой которой служил триптический перевар сердца крупного рогатого скота[11]. В качестве источника азота, углерода, витаминов и аминокислот в состав среды входил мясной экстракт, а источником предшественников нуклеиновых кислот служил экстракт дрожжей. Непосредственно перед использованием к готовой питательной среде требуется добавление 15–20 % стерильной неинактивированной сыворотки крови лошади. Для выявления микоплазм в среде этого состава не требовалось создания специальных условий. Инкубация проводилась при температуре (37 ± 1) °С в течение 14 сут. Жидкая питательная среда и полужидкая среда, содержащая 0,3 % агара, предназначены для накопления и выделения микоплазм соответственно. Уникальная способность полужидкой питательной среды, содержащей пониженную концентрацию агара (0,3 %), формировать колонии микоплазм в виде «светлого облачка, ажурной паутинки или пушистых комочков» в толще полужидкой среды, обеспечивала возможность подсчитывать количество колоний при визуальном просмотре в проходящем свете и определять титр микоплазм в испытуемом материале. К тому же состав этой питательной среды позволял создавать оптимальные условия, необходимые для выделения и культивирования различных видов микоплазм. Для подтверждения наличия микоплазм предназначалась плотная питательная среда, содержащая 1,3 % агара, на которой колонии микоплазм, наблюдаемые при малом увеличении микроскопа, вырастали в форме «яичницы-глазуньи» диаметром 0,1–0,3 мм с выпуклым вросшим в агар центром и ажурной периферией[12].

В связи с тем, что в качестве компонентов среды использовали нестандартное сырье биологического происхождения, не менее важной для выбора партий среды с высоким уровнем чувствительности явилась проблема стандартизации условий оценки ее пригодности. ВОЗ для получения эффективных и безопасных лекарственных средств рекомендует при проведении испытаний применять соответствующие стандарты[13]. Использование биологических стандартных образцов позволяет сопоставлять полученные данные, достигать единообразия и уменьшать вариабельность при проведении тестирования БЛП. Необходимость стандартизации метода контроля питательных сред лабораторного приготовления, качество которых может варьировать в зависимости от качества используемых ингредиентов, оказывая влияние на результаты контроля, послужила предпосылкой разработки ОСО тест-штамма *M. arginini* G230. Выбор тест-штамма для определения чувствительности среды был обусловлен тем, что аргининзависимый штамм *M. arginini* как наиболее часто встречающийся контаминант клеточных культур и препаратов сывороток крови животных обладал, во-первых, повышенными пищевыми потребностями, а во-вторых, выдерживал процедуру лиофилизации с последующим практически 100 % восстановлением первоначального количества жизнеспособных клеток. Это позволяет исключить стадии дополнительных пересевов по восстановлению культуры, что, в свою очередь, приводит к снижению риска ее повреждения и контаминации, и не только повышает достоверность и точность испытания, но и упрощает процедуру анализа. Разработанный лиофилизированный стандартный образец тест-штамма *M. arginini* G230 (титр $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл) был изготовлен в соответствии с основными принципами приготовления и утверждения эталонов для биологических материалов, изложенными комитетом экспертов ВОЗ[14], и сохранял стабильность свойств при длительном хранении. Простота и удобство его использования, не требующие проведения при каждом контроле дополнительной процедуры по стандартизации концентрации микробной взвеси, позволяют получать требуемое количество КОЕ титрованием лиофильно высушенного ОСО в физиологическом растворе методом десятикратного разведения от 10^{-1} до 10^{-10}. Критерием пригодности среды является наличие визуально обнаруживаемого роста тест-штамма *M. arginini* G230 из разведений 10^{-7}, 10^{-6} (10–100 КОЕ) не позднее 7 сут инкубации при температуре (37 ± 1) °С[15]. Методика, обеспечивающая возможность выбора наиболее чувствительных серий питательной среды, и использование ОСО тест-штамма *M. arginini* G230 в качестве эталона при оценке ее качества позволили стандартизовать условия проведения испытания на присутствие микоплазм.

Результаты исследований послужили основой для разработки национальных требований к проведению испытаний клеточных культур — субстратов производства, вирусных банков, а также готовых форм лекарственных препаратов на присутствие микоплазм микробиологическим методом, которые были внесены в МУК 4.1/4.2.588–96[16], а затем в нормативные документы на соответствующие препараты.

Развитие методов оценки качества биологических препаратов привело к дальнейшему совершенствованию испытания на присутствие микоплазм. В нашей стране требования к проведению испытания внесены в ГФ РФ XIV изд.[17], в которой установлены нормативные требования и изложен порядок проведения испытания на присутствие микоплазм для посевных (исходных) клеток, клеточных культур мастер банка, рабочих банков, производственных и контрольных клеточных культур, вспомогательных материалов (трипсин, сыворотка крови животных), вирусных банков, вирусных сборов, готового лекарственного препарата до розлива, готовой лекарственной формы препарата, которые согласно нормативной документации не должны содержать микоплазмы. Согласно этим требованиям тестирование на присутствие микоплазм проводят микробиологическим (культуральным) методом и методом индикаторной клеточной культуры (цитохимическим) с использованием флюоресцирующего красителя ДНК. Как правило, двумя методами испытание на присутствие микоплазм проводят для посевных (исходных) клеток, клеточных культур мастер банка и рабочих банков, производственных и контрольных клеточных культур, а вирусные банки, вирусные сборы, готовый препарат до розлива и готовую форму препарата тестируют только микробиологическим методом.

Согласно требованиям ГФ РФ XIV изд. для проведения испытания БЛП на присутствие микоплазм микробиологическим методом, как и ранее, предусмотрено использование

[11] Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012.
[12] Каган ГЯ. Современные проблемы учения о микоплазменных инфекциях. Клин: Медицина; 1983.
[13] Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов. Серия технических докладов ВОЗ 760; 1990.
[14] Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов. Серия технических докладов ВОЗ 530; 1975.
[15] Бердникова ЗЕ. Разработка и стандартизация методов выявления микоплазм-контаминантов медицинских биологических препаратов: дис. … канд. биол. наук. М.; 1991.
[16] МУК 4.1/4.2.588-96 Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям.
[17] Общая фармакопейная статья 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2; 2018.

Таблица 3. Тест-штаммы микроорганизмов, рекомендуемые для оценки ростовых свойств питательных сред, предназначенных для испытания вакцин различного назначения на наличие микоплазм
Table 3. Test strains recommended for evaluation of growth promotion properties of culture media used for testing various vaccines for the presence of mycoplasmas

Наименование тест-штамма микроорганизма Test strains	Характеристика вакцины Vaccine characteristics
Acholeplasma laidlawii	Вакцины для медицинского и ветеринарного применения, в процессе производства которых используются антибиотики Vaccines for human use and veterinary vaccines whose production involves the use of antibiotics
Mycoplasma gallisepticum	Вакцины, в процессе производства которых используются материалы, субстраты птичьего происхождения. Вакцины, предназначенные для применения в птицеводстве Vaccines whose production involves the use of materials and substrates of avian origin. Vaccines to be used in the poultry industry
M. hyorhinis *M. heopneumoniae*	Вакцины для ветеринарного назначения, кроме применяемых в птицеводстве Veterinary vaccines with the exception of poultry vaccines
M. orale	Вакцины для медицинского и ветеринарного назначения Vaccines for human use and veterinary vaccines
M. pneumonia, *M. fermentans*	Вакцины для медицинского применения Vaccines for human use
M. synoviae	Вакцины, предназначенные для применения в птицеводстве. Вакцины, в процессе производства которых используются материалы, субстраты птичьего происхождения Poultry vaccines. Vaccines whose production involves the use of materials and substrates of avian origin

полужидкой среды Каган. При необходимости для накопления микоплазм может быть использована жидкая среда Каган, а для подтверждения наличия микоплазм — плотная среда, содержащая агар в концентрации 1,3 %. Ростовые свойства приготовленной партии питательной среды также проверяют с помощью ОСО одного тест-штамма *M. arginini* G230, однако допускается использование и музейных тестовых штаммов микроорганизмов в зависимости от типа испытуемого препарата: *A. laidlawii, M. gallisepticum, M. fermentans, M. hyorhinis, M. orale, M. pneumonia, M. synoviae* при условии использования соответствующих по ростовым свойствам питательных сред. Конкретные прописи рекомендуемых сред и требования к штаммам или наименование коллекций не приводятся.

Для совершенствования испытания на присутствие микоплазм нами был проведен детальный анализ требований регуляторных органов зарубежных стран. Испытание на присутствие микоплазм, так же как и в ГФ РФ XIV изд., рекомендовано проводить с помощью двух методов: микробиологического метода (посев на питательные среды) и метода индикаторной клеточной культуры (цитохимического), окрашиванием ДНК микоплазм флюоресцирующим красителем. Виды тестируемых материалов и методы их исследования, указанные в зарубежных фармакопеях и ГФ РФ, совпадают. Сравнение отечественных и зарубежных требований к условиям проведения испытания цитохимическим методом показало, что они не имеют существенных различий и согласуются с требованиями, изложенными в ОФС 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм[18]. Контроль клеточных культур на присутствие микоплазм цитохимическим методом позволяет выявлять трудно культивируемые виды микоплазм и рекомендован во всех изученных документах для скрининга питательных сред[19]. Метод представляет собой сложную многоступенчатую процедуру, предусматривающую получение монослоя производственной или другой клеточной культуры, чувствительной к микоплазмам, фиксирование, окрашивание специфическим флюоресцирующим красителем ДНК и просмотр в люминесцентном микроскопе.

В связи с тем, что испытание БЛП микробиологическим методом является более простым, обладающим достаточно высокой чувствительностью и специфичностью, в фармацевтическом анализе различных стран метод находит более широкое применение. Сравнение отечественных и зарубежных требований к методике проведения исследования испытуемого материала микробиологическим методом показало наличие ряда расхождений. Основные отличия затрагивают требования к используемым питательным средам и оценке их ростовых свойств. Согласно требованиям практически всех зарубежных фармакопей испытание на присутствие микоплазм проводят при температуре (36 ± 1) °С с использованием жидких и плотных питательных сред, предусматривающих создание для плотных сред специальных микроаэрофильных условий (атмосфера азота, содержащая 5–10 % CO_2). В состав сред, рекомендуемых для обнаружения микоплазм, в качестве основных компонентов входят бульон из экстракта говяжьего сердца и сыворотка крови свиньи или лошади (среды Фрея, Хейфика, Фриса). Полужидкие среды, аналогичные среде Каган, в зарубежных фармакопеях для испытания на присутствие микоплазм не используются. В зависимости от вида предполагаемого контаминанта в среды рекомендовано добавлять необходимые аминокислоты, витамины и антибиотики. Оценку их ростовых свойств в зависимости от испытуемого материала и назначения лекарственного средства определяют, используя не стандартные образцы, как предложено в ГФ РФ XIV изд., а с помощью тест-штаммов: *M. orale, A. laidlawii, M. gallisepticum, M. fermentans, M. hyorhinis, M. pneumonia, M. synoviae*, являющихся изолятами культур микоплазм, выделенных из патогенного материала, прошедших не более 15 пассажей и хранящихся в замороженном или лиофилизированном состоянии. Плотная среда, предназначенная для оценки качества БЛП, выдерживает испытание,

[18] Общая фармакопейная статья 1.7.2.0031.15 Испытание на присутствие микоплазм. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. 2; 2018.
[19] WHO Expert committee on biological standardization. WHO Technical Report Series 872, 1998.
2.6.7. Mycoplasmas. European Pharmacopoeia 9th ed.

аналогично требованиям ГФ РФ, при наличии роста каждого тест-микроорганизма при посеве не более 100 КОЕ. Качество жидкой среды для накопления микоплазм оценивается по наличию роста на плотной среде материала, пересеянного, по крайней мере, 1 раз с бульона, в который было первоначально внесено также не более 100 КОЕ. Изучение требований зарубежных фармакопей (ЕФ, ФСША, ГФ РБ), представленных в таблице 3, свидетельствует, что при определении качества вакцин для медицинского применения ростовые свойства питательных сред рекомендовано оценивать в отношении наиболее чувствительных штаммов самых распространенных видов контаминирующих микоплазм — *M. orale* (аргининзависимый) и *A. laidlawii* (глюкозоферментирующий), а также патогенных для человека — *M. pneumonia* и *M. fermentans*.

По требованиям ФСША в качестве положительного контроля и для подтверждения ростовых свойств каждой серии питательной среды рекомендовано использовать как минимум два тест-штамма, один из которых должен быть глюкозоферментирующим (*M. pneumonia* или аналогичный), а другой — аргининзависимым (*M. orale* или аналогичный).

Таким образом, в настоящее время основным отличием зарубежных требований от требований ГФ РФ к оценке качества питательных сред при проведении испытания БЛП на наличие микоплазм является использование большего числа наиболее значимых для безопасности вакцин тест-штаммов. Однако безусловным преимуществом рекомендаций отечественной фармакопеи является возможность применения полужидкой питательной среды, не требующей создания специальных аэробных или анаэробных условий инкубации, позволяющей определять количество колоний и титр микоплазм в испытуемом материале, при подтверждении ее ростовых свойств с помощью стандартного образца тест-штамма *M. arginini* G230, обладающего способностью дифференцировать партии питательной среды по их чувствительности.

Заключение

Анализ требований Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV изд. и ведущих зарубежных фармакопей к порядку подтверждения ростовых свойств питательных сред, используемых для проведения испытания на присутствие микоплазм культуральным (микробиологическим) методом, показал, что отечественная нормативная база в части оценки качества питательных сред для выявления микоплазм нуждается в актуализации и совершенствовании с учетом международных требований. В качестве основного направления совершенствования отечественной методики целесообразно рассматривать разработку стандартных образцов для более широкого спектра тестовых штаммов и, в первую очередь, чувствительных к составу питательной среды *M. orale* и *A. laidlawii*, а также патогенных для человека *M. pneumonia* и *M. fermentans*. Использование новых стандартных образцов позволит не только гармонизировать отечественные и международные требования к оценке пригодности питательной среды для проведения испытания, но и стандартизовать условия проведения оценки, а также повысить качество и безопасность биологических лекарственных препаратов.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Конфликт 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. Прозоровский СВ, Раковская ИВ, Вульфович ЮВ. *Медицинская микоплазмология.* М.: Медицина; 1995. [Prozorovskiy SV, Rakovskaya IV, Vul'fovich YuV. *Medical mycoplasmology*. Moscow: Meditsina; 1995 (In Russ.)]
2. McGarrity GJ, Kotani H, Butler GH. Mycoplasmas and tissue culture cells. In: Maniloff J, McElhaney RN, Finch LR, Baseman JB, eds. *Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis.* Washington DC: American Society for Microbiology; 1992. P. 445–54.
3. Чернов ВМ, Чернова ОА, Санчес-Вега ХТ, Колпаков АИ, Ильинская ОН. Микоплазменные контаминации клеточных культур: везикулярный трафик у бактерий и проблема контроля инфектогенов. *Acta Naturae.* 2014;6(3):43–54. [Chernov VM, Chernova OA, Sanchez-Vega JT, Kolpakov AI, Ilinskaya ON. Mycoplasma contamination of cell cultures: vesicular traffic in bacteria and control over infectious agents. *Acta Naturae.* 2014;6(3):43–54 (In Russ.)]
4. Olarerin-George AO, Hogenesch JB. Assessing the prevalence of mycoplasma contamination in cell culture via a survey of NCBI's RNA-seq archive. *Nucleic Acids Res.* 2015;43(5):2535–42. https://doi.org/10.1093/nar/gkv136
5. 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 YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products — new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2016;(2):38–41 (In Russ.)]
6. Савичева АМ, Шипицына ЕВ, Башмакова МА. Генитальные микоплазмы — проблемы диагностики и лечения. *Клиническая дерматология и венерология.* 2008;(6):80–90. [Savicheva AM, Shipitsyna EV, Bashmakova MA. Genital Mycoplasmas are the problems of diagnosis and treatment. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*. 2008;(6):80–9 (In Russ.)]
7. Потатуркина-Нестерова НИ, Немова ИС, Магомедова АМ, Нестеров АС. Патогенный потенциал микоплазм, эпидемиологически ассоциированных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта. *Фундаментальные исследования.* 2012;(1):89–92. [Potaturkina-Nesterova NI, Nemova IS, Magomedova AM, Nesterov AS. Pathogenic mycoplasma potential epidemiologically associated with inflammatory diseases of urinogenital tract. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental research*. 2012;(1):89–92 (In Russ.)]
8. Подчерняева РЯ, Урываев ЛВ, Дедова АВ, Дедова ЛВ, Ионова КС, Михайлова ГР и др. Определение микоплазм и вируса бычьей диареи в коллекционных клеточных линиях. *Клеточные культуры. Информационный бюллетень.* 2011;27:80–8. [Podchernyaeva RYa, Uryvaev LV, Dedova AV, Dedova LV, Ionova KS, Mikhaylova GR, et al. Determination of mycoplasmas and bovine diarrhea virus

in collection cell lines. *Kletochnye kul'tury. Informatsionnyy byulleten' = Cell Culture. News Bulletin*. 2011;27:80–8 (In Russ.)]

9. Сухинин АА, Макавчик СА, Кузьмин ВА, Фогель ЛС, Орехов ДА, Карпенко ЛЮ, Кан ФЛ. *Методические рекомендации по профилактике и ликвидации микоплазмозов сельскохозяйственных животных, в том числе птиц*. СПб: ФГБОУ ВО СПбГАВМ; 2017. [Sukhinin AA, Makavchik SA, Kuz'min VA, Fogel' LS, Orekhov DA, Karpenko LYu, Kan FL. *Guidelines for the prevention and elimination of mycoplasmosis of farm animals, including birds*. St. Petersburg: FGBOU VO SPbGAVM; 2017 (In Russ.)]
10. Колокольцова ТД, Сабурина ИН. Патологические аспекты микоплазменной контаминации клеточных культур. *Патогенез*. 2013;11(3):29–31. [Kolokoltsova TD, Saburina IN. Pathologic aspects of mycoplasma contamination of cell cultures. *Patogenez = Pathogenesis*. 2013;11(3):29–31 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Суханова Светлана Михайловна, канд. биол. наук. *Svetlana M. Sukhanova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** http://orcid.org/0000-0001-6621-4384

Бердникова Зинаида Евтропиевна, канд. биол. наук. *Zinaida E. Berdnikova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0002-9865-4250

Тихонова Александра Сергеевна. *Aleksandra S. Tikhonova*

Поступила 31.07.2019
После доработки 26.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 31 July 2019
Revised 26 August 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 615.033/034:615.277.3
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-169-177

ШИФР СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
14.03.09 Клиническая иммунология, аллергология
14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

CC BY 4.0

Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки

А. В. Батенева*, О. В. Симакова, С. Г. Гамалей, Е. А. Волосникова, Л. Р. Лебедев, Е. Д. Даниленко

Институт медицинской биотехнологии
Федерального бюджетного учреждения науки
«Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека
ул. Химзаводская, д. 9, Бердск, Новосибирская область, 633010, Российская Федерация

Основными проблемами использования фактора некроза опухоли альфа (ФНО-альфа) в противоопухолевой терапии являются его быстрая деградация в кровеносном русле и ограниченная селективность накопления в ткани опухоли. В ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора создана биодеградируемая молекулярная конструкция, обеспечивающая защиту от протеаз и адресную доставку белков в ткань опухоли. На основе этой конструкции разработан противоопухолевый препарат, содержащий рекомбинантный ФНО-альфа человека (рчФНО-альфа). **Цель работы:** изучить фармакокинетику рчФНО-альфа в средстве доставки при его однократном введении. **Материалы и методы:** препарат рчФНО-альфа в средстве доставки вводили самкам аутбредных мышей ICR (CD-1) однократно внутривенно в двух эффективных противоопухолевых дозах 2,55 мкг и 5,1 мкг на 20 г массы тела. Концентрацию ФНО-альфа в сыворотке крови и супернатантах гомогенатов органов, взятых в разные сроки после введения, определяли иммуноферментным методом. **Результаты:** полученные кривые изменения содержания в крови ФНО-альфа удовлетворительно описывались уравнением для двухчастевой модели без всасывания. Быстрая фаза процесса выведения из крови приходилась на период 0–4 ч, медленная — 4–24 ч. Наиболее высоким удельное содержание белка было в ткани кожи, селезенке и почках. Расчет фармакокинетических параметров указал на то, что наиболее высокие значения тканевой доступности f_T были установлены для почек и кожи; более длительно (в соответствии с данными *MRT*) препарат удерживался в почках, печени и коже. Процесс элиминации препарата в основном завершался к концу первых суток после введения. **Выводы:** рчФНО-альфа в средстве доставки при однократном внутривенном введении мышам в диапазоне эффективных доз быстро элиминировался из крови и распределялся по тканям внутренних органов. Основными органами распределения препарата являлись кожа, почки и селезенка. Процесс элиминации препарата из крови носил двухфазный характер и в основном завершался к концу первых суток.

Ключевые слова: фармакокинетика; фактор некроза опухоли альфа; молекулярная конструкция; аутбредные мыши; средства доставки

Для цитирования: Батенева АВ, Симакова ОВ, Гамалей СГ, Волосникова ЕА, Лебедев ЛР, Даниленко ЕД. Фармакокинетика рекомбинантного человеческого фактора некроза опухоли альфа в составе средства доставки. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2019;19(3):169–177. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-169-177

*__Контактное лицо:__ Батенева Алена Владимировна; bateneva_av@vector.nsc.ru

Pharmacokinetics of Recombinant Human Tumor Necrosis Factor Alpha in the Delivery System

A. V. Bateneva*, O. V. Simakova, S. G. Gamaley, E. A. Volosnikova, L. R. Lebedev, E. D. Danilenko

Institute of Medical Biotechnology of the Federal Budgetary Research Institution
«State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector»,
9 Khimzavodskaya St., Berdsk, Novosibirsk oblast 633010, Russian Federation

The main problems of using TNF-alpha in antitumor therapy are its rapid degradation in the bloodstream and the limited selectivity of accumulation in the tumor tissue. The SRC VB «Vector» developed a biodegradable molecular construct that provides protection against proteases and ensures targeted delivery of proteins to the tumor tissue. This construct was used to create an antitumor drug containing recombinant human TNF-alpha (rhTNF-alpha). **The aim of the study** was to analyse rhTNF-alpha pharmacokinetics in the delivery system after a single administration. **Materials and methods:** the rhTNF-alpha drug carried by the delivery system was intravenously administered to female outbred ICR (CD-1) mice only once at two effective antitumor doses, 2.55 μg and 5.1 μg / 20 g of body weight. The concentration of TNF-alpha in the serum and supernatants of organ homogenates, obtained at different time points after administration, was analysed by immunoenzyme assay. **Results:** the obtained curves of TNF-alpha concentration in the blood were satisfactorily described by the equation for the two-compartment model without absorption. The rapid phase of elimination from the blood took 0–4 h, the slow one — 4–24 h. The highest specific content of protein was observed in the skin, spleen, and kidneys tissue. The calcula-

tion of pharmacokinetic parameters demonstrated that the highest values of tissue availability f_T were obtained for the kidneys and skin; the drug was retained for longer periods of time in the kidneys, liver and skin (according to the *MRT* data). As a rule, complete elimination of the drug was observed by the end of the first day after administration. **Conclusions:** rhTNF-alpha carried by the delivery system was quickly eliminated from the blood and distributed in the internal organ tissues after a single intravenous administration to mice in the effective doses range. The main organs in which rhTNF-alpha was distributed were skin, kidneys, and spleen. The elimination of the drug from the blood was a two-phase process which was generally over by the end of the first day.
Key words: pharmacokinetics; tumor necrosis factor alpha; molecular construct; outbred mice; delivery system

For citation: Bateneva AV, Simakova OV, Gamaley SG, Volosnikova EA, Lebedev LR, Danilenko ED. Pharmacokinetics of recombinant human tumor necrosis factor alpha in the delivery system. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(3):169–177. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-169-177
***Corresponding author:** Alena V. Bateneva; bateneva_av@vector.nsc.ru

Поиск эффективных средств и способов лечения онкологических заболеваний является одной из актуальных задач современной медицины. Иммунотерапия, в частности цитокинотерапия, приобретает все большую значимость среди методов лечения злокачественных новообразований. Среди цитокинов можно выделить фактор некроза опухоли альфа (ФНО-альфа), интерес к которому связан с наличием выраженных противоопухолевых свойств — способностью оказывать цитотоксическое действие на опухолевые клетки, повреждать опухолевые сосуды, вызывать геморрагический некроз широкого спектра опухолей, активировать иммунный противоопухолевый ответ [1–3]. Однако быстрая деградация белка в кровеносном русле, а также ограниченная селективность накопления белка в ткани опухоли обусловливают необходимость его многократных инъекций для поддержания эффективной дозы. При этом системное введение ФНО-альфа в высоких дозах сопровождается разнообразными токсическими эффектами (гипотензия, почечная недостаточность, повышение свертываемости крови и т. д.) [4, 5], что ограничивает использование препарата в клинической практике. Одним из возможных способов решения данной проблемы является создание транспортных форм для адресной доставки ФНО-альфа к клеткам-мишеням. Использование этих систем позволяет повысить стабильность молекулы белка в кровеносном русле, усилить противоопухолевую активность за счет уменьшения деградации и более интенсивного накопления в ткани опухоли, снизить системную токсичность за счет введения более низких доз по сравнению со свободным белком [6–11].

В качестве средства для транспортировки белков группой ученых ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребназдора была разработана и исследована двухслойная молекулярная конструкция. В центральной части конструкции, ядре, содержится полинуклеотидный материал, представленный двуспиральной РНК из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и покрытый оболочкой из конъюгата спермидин-полиглюкин (декстран) [12, 13]. Все компоненты данной конструкции обладают способностью к биодеградации, биологической активностью и низкой токсичностью. Самосборка конструкции осуществляется за счет разнополярного ионного взаимодействия между ее компонентами. В дальнейшем разработанный метод был использован для получения частицы, несущей на своей поверхности рекомбинантный человеческий ФНО-альфа (рчФНО-альфа) [14–16]. В экспериментах на мышах было показано, что рчФНО-альфа в составе частицы был менее токсичным, чем свободный белок. В ходе изучения противоопухолевой активности было показано торможение роста опухоли у мышей в дозах в 10–100 раз меньших, чем после инъекций ФНО-альфа. Эффект был обусловлен более длительной циркуляцией препарата в крови и более интенсивным его накоплением в ткани опухоли в ранние сроки после введения [17–19].

Цель работы — изучить фармакокинетику лекарственной формы рекомбинантного человеческого ФНО-альфа в составе средства доставки при однократном внутривенном введении мышам в диапазоне эффективных противоопухолевых доз.

Материалы и методы

Для изучения фармакокинетики использовали препарат готовой лекарственной формы рчФНО-альфа в средстве доставки, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения производства Института медицинской биотехнологии (ИМБТ) ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Содержание ФНО-альфа в препарате составило 0,16 мг/мл, дсРНК — 0,09 мг/мл, специфическая (цитолитическая) активность — $3{,}1 \cdot 10^6$ МЕ/мл, в качестве наполнителя использовали D-маннит в концентрации 47,4 мг/мл. Серия препарата была аттестована в лаборатории контроля качества ИМБТ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на соответствие проекту нормативной документации.

В основу дизайна исследования были положены методические рекомендации по проведению фармакокинетики лекарственных средств[1]. Исследование проводили на здоровых самках белых аутбредных мышей ICR (CD-1) с массой тела 18–22 г. Животные были получены из питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и прошли период адаптационного карантина. До начала и в ходе эксперимента мыши содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении на сбалансированном пищевом рационе со свободным доступом к корму и воде. Условия содержания и ухода за животными соответствовали действующим нормативным документам[2]. Все манипуляции с животными проводили согласно Протоко-

[1] Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств. В кн.: Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. С. 845–55.

Оценка фармакокинетики и проявлений токсических эффектов. В кн.: Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012. С. 252–3.

[2] СП 2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 г. № 51 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)».

ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур.

ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

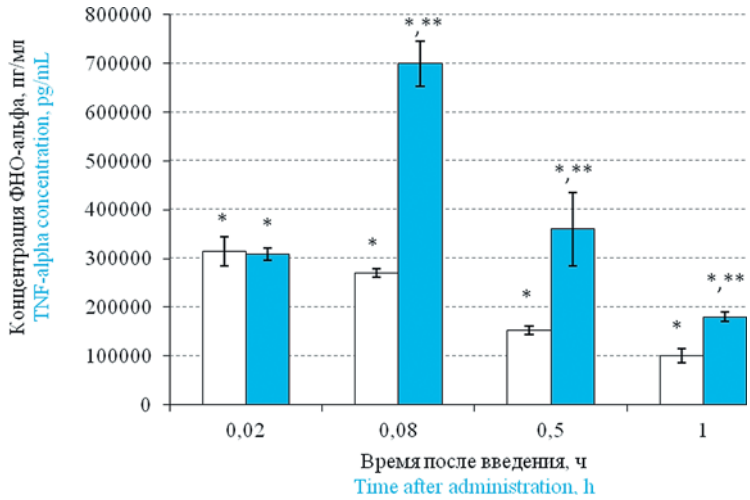


Рис. 1. Динамика изменения концентрации ФНО-альфа в сыворотке крови мышей в течение 1 ч после однократного внутривенного введения препарата рчФНО-альфа. □ — минимальная эффективная доза ($ЭД_{min}$); ■ — максимальная эффективная доза ($ЭД_{max}$).
* статистически значимое отличие от контроля; ** статистически значимое отличие от группы $ЭД_{min}$, $p \le 0,05$.
Fig. 1. Dynamic pattern of TNF-alpha concentration in the serum of mice within 1 h after a single intravenous administration of the rhTNF-alpha drug. □ — minimum effective dose (ED_{min}); ■ — maximum effective dose (ED_{max}).
* statistically significant difference from control; ** statistically significant difference from group ED_{min}, $p \le 0.05$.

лу-заявке № 62 от 12.09.2016 на работу с лабораторными животными, утвержденному Биоэтической комиссией ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Исследование было выполнено согласно основным регулирующим стандартам в области надлежащей лабораторной практики[3].

Самки мышей были разделены на группы: 2 опытные (по 30 особей в каждой группе) и 2 контрольные (по 5 особей); по критерию массы тела, разброс показателя которой внутри группы не должен был превышать 10 %. Препарат вводили животным однократно внутривенно (в хвостовую вену). Дозы препарата были выбраны из диапазона эффективных доз, установленных при изучении противоопухолевой активности. Мышам первой опытной группы вводили препарат в минимальной эффективной дозе ($ЭД_{min}$) — 2,55 мкг белка ($5 \cdot 10^4$ МЕ) на 20 г веса мыши. Мышам второй опытной группы вводили максимальную эффективную дозу ($ЭД_{max}$) — 5,1 мкг белка ($1 \cdot 10^5$ МЕ) на 20 г веса мыши. Контрольные животные получали внутривенные инъекции физиологического раствора.

Через 0,02 (1 мин), 0,08 (5 мин), 0,5 (30 мин), 1, 4 и 24 ч после внутривенного введения препарата рчФНО-альфа (опытные группы) и через 4 ч после введения физиологического раствора (группа контроля) у мышей забирали на анализ образцы крови, внутренних органов (печень, почки, селезенка), ткань мышцы и кожи. Органы и ткани взвешивали. Образцы забирали у 5 животных в группе на каждый срок исследования. Выбор периферических тканей осуществляли таким образом, чтобы среди объектов были ткани, отличающиеся по степени васкуляризации. Из образцов крови получали сыворотку путем центрифугирования при 3000 об/мин, 4 °С в течение 15 мин. Сыворотку крови и органы замораживали и хранили при температуре минус 20–25 °С.

Перед анализом образцы органов и тканей размораживали и готовили 10 % гомогенаты в охлажденном физиологическом растворе с помощью системы для гомогенизации «Glas-Col» (США). Гомогенаты центрифугировали при 10 000 об/мин, 4 °С в течение 20 мин и отбирали супернатанты для анализа. Концентрацию ФНО-альфа в образцах сыворотки крови и супернатантах гомогенатов определяли твердофазным иммуноферментным методом с помощью коммерческих наборов реагентов «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», р. п. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкции по применению.

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета программ «Statgraphics, Vers. 5.0» (Statistical Graphics Corp., США). Рассчитывали следующие параметры описательной статистики: среднюю арифметическую величину, дисперсию, стандартное отклонение, минимальное и максимальное значения, размах, коэффициенты асимметрии (Skewness) и эксцесса (Kurtosis), медиану, стандартную ошибку. В связи с малыми объемами выборок для оценки значимости межгрупповых различий применяли непараметрический *H*-критерий Краскела-Уоллиса. При обнаружении статистически значимых различий проводили сравнения с помощью двухвыборочного *U*-критерия Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез (p) принимали равным 0,05. Экспериментальные данные представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки.

На основании полученных результатов количественного определения ФНО-альфа проводили проверку гипотезы линейности путем регрессионного анализа и расчет фармакокинетических параметров с использованием метода частевых моделей [17]. Характеристику распределения ФНО-альфа по органам описывали согласно рекомендациям по анализу данных фармакокинетики[4] путем расчета следующих параметров: AUC_{0-24} — площадь под кривой «концентрация–время» в интервале 0–24 ч методом наименьших квадратов; *MRT* — среднее время удержания препарата в организме; f_T — тканевая доступность.

[3] Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».
ГОСТ 33044-2014 Принципы надлежащей лабораторной практики.
[4] Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики лекарственных средств. В кн.: Миронов АН, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К; 2012. С. 845–55.

Таблица 1. Содержание ФНО-альфа в сыворотке крови мышей после однократного внутривенного введения препарата рчФНО-альфа
Table 1. TNF-alpha concentration in the serum of mice after a single intravenous administration of the rhTNF-alpha drug

Время после инъекции, ч Time after injection, h	Содержание ФНО-альфа TNF-alpha concentration			
	$ЭД_{min}$ ED_{min}		$ЭД_{max}$ ED_{max}	
	Концентрация, пг/мл Concentration, pg/mL	% от введенной дозы % of administered dose	Концентрация, пг/мл Concentration, pg/mL	% от введенной дозы % of administered dose
0,02	314 586 ± 30 088[a]	12,3	309 369 ± 12 152[a]	6,1
0,08	269 889 ± 8233[a]	10,6	699 648 ± 46 714[a,b]	13,7
0,5	152 197 ± 8884[a]	6,0	360 258 ± 75 371[a,b]	7,1
1	100 801 ± 14 422[a]	4,0	180 406 ± 9936[a,b]	3,5
4	166 ± 19[a]	0,007	1015 ± 181[a,b]	0,020
24	3,48 ± 1,59	0,0001	6,09 ± 2,74	0,0001

Примечание. $ЭД_{min}$ — минимальная эффективная доза; $ЭД_{max}$ — максимальная эффективная доза.
[a] Статистически значимое отличие от контроля; [b] статистически значимое отличие от группы $ЭД_{min}$, $p \le 0,05$.
Note. ED_{min} — minimum effective dose; ED_{max} — maximum effective dose.
[a] Statistically significant difference from control; [b] statistically significant difference from group ED_{min}, $p \le 0.05$.

Результаты и обсуждение

Динамика изменения концентрации ФНО-альфа в сыворотке крови мышей после однократного внутривенного введения препарата рчФНО-альфа в средстве доставки представлена на рисунке 1 и в таблице 1.

Анализ полученных данных показал, что в первой точке (через 1 мин после введения) содержание ФНО-альфа в крови мышей, получавших $ЭД_{min}$ препарата, было максимальным из зарегистрированных в этой группе. Концентрация белка была равна 314 586 пг/мл и составляла 12,3 % от величины введенной дозы (рис. 1, табл. 1). В дальнейшем наблюдалось снижение уровня ФНО-альфа в крови: в период 0,08–1 ч в 1,2–3,1 раза, через 4 ч — в 1895 раз, а через 24 ч показатель снижался до значения контрольной группы (в контроле — 4,66 ± 0,39 пг/мл).

Несколько иной была динамика показателя в группе мышей после введения препарата в $ЭД_{max}$. Концентрация белка в крови, взятой через 1 мин после введения препарата, была равна 309 369 пг/мл, что составило 6,1 % от введенной дозы препарата. Максимальное из зарегистрированных значение содержания белка в крови мышей данной группы наблюдалось через 5 мин и составляло 699 648 пг/мл (13,7 % от введенного). Такая динамика, на наш взгляд, свидетельствует о возможности быстрого проникновения и распределения препарата рчФНО-альфа в органах и тканях в первые минуты после введения с последующим обратным выходом в кровеносное русло. В последующие сроки, через 0,5 и 1 ч после введения, происходило снижение показателя в 1,9 и 3,9 раза соответственно относительно максимального значения. К концу четырехчасового периода наблюдения концентрация ФНО-альфа в сыворотке крови мышей второй опытной группы составляла 1015 пг/мл белка, к концу первых суток статистически не отличалась от контроля 4,66 ± 0,39 пг/мл.

Тот факт, что повышенный уровень ФНО-альфа в крови животных сохраняется в течение по меньшей мере 4 ч после

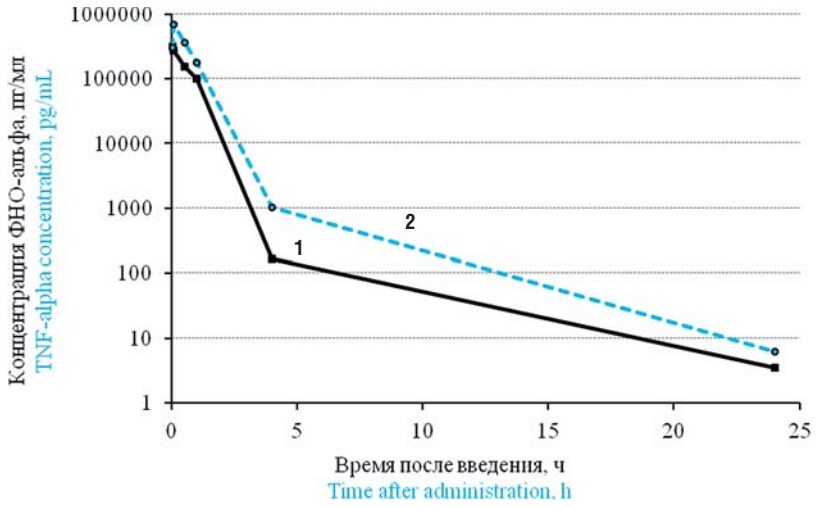


Рис. 2. Зависимость концентрации ФНО-альфа в сыворотке крови мышей от времени после однократного внутривенного введения препарата рчФНО-альфа (в полулогарифмических координатах). 1 — минимальная эффективная доза ($ЭД_{min}$); 2 — максимальная эффективная доза ($ЭД_{max}$).
Fig. 2. TNF-alpha concentration in the serum of mice as a function of time after a single intravenous administration of rhTNF-alpha (in semi-logarithmic coordinates). 1 — minimum effective dose (ED_{min}); 2 — maximum effective dose (ED_{max}).

введения препарата рчФНО-альфа, согласуется с результатами, полученными нами ранее [17]. Согласно этим данным, внутривенное введение мышам ФНО-альфа в составе средства доставки приводило к повышению его уровня и удлинению периода циркуляции в кровеносном русле по сравнению со свободным ФНО-альфа. На наш взгляд, одним из возможных объяснений является то, что ФНО-альфа в средстве доставки является более устойчивым к протеазам крови.

Полученные данные зависимости концентрации ФНО-альфа в крови мышей от времени не удалось линеаризовать в полулогарифмических координатах (рис. 2). Однако экспериментальные точки удовлетворительно аппроксимировались уравнением, описывающим двухчастевую линейную модель без всасывания:

$$C(t) = A_1 e^{-\alpha t} + A_2 e^{-\beta t}, \quad (1)$$

где $C(t)$ — концентрация ФНО-альфа в сыворотке крови мышей в момент времени t, пг/мл;
A_1 и A_2 — количество ФНО-альфа, которое выводится из 1 мл сыворотки крови, соответственно, в первой и второй фазах процесса элиминации, пг/мл;
α и β — комплексные параметры, пропорциональные константе скорости выведения препарата в первой и второй стадиях процесса;
e — основание натурального логарифма (2,71828).

Анализ экспериментальных данных показал, что кинетика процесса выведения препарата из кровеносного русла характеризуется наличием быстрой (0–4 ч) и медленной (4–24 ч) фаз (рис. 2). Основная часть препарата элиминировалась в течение первых 4 ч после введения — 99,99 и 99,98 % при введении $ЭД_{min}$ и $ЭД_{max}$ соответственно. Формы фармакокинетических кривых после введения обеих доз существенно не отличались друг от друга.

Фармакокинетические параметры, рассчитанные с помощью уравнения (1), приведены в таблице 2.

Расчеты показали, что количество препарата, которое выводилось из крови в быстрой фазе процесса (A_1), различалось для $ЭД_{min}$ и $ЭД_{max}$ в 2 раза. В медленной фазе (A_2) процесса количество выводимого препарата в группе при введении $ЭД_{max}$ было в 7,8 раза больше.

Время полураспределения $t^{\alpha}_{1/2}$ в обеих группах было меньше времени полувыведения $t^{\beta}_{1/2}$ из крови, т. е. препарат довольно

Таблица 2. Расчетные фармакокинетические параметры препарата рчФНО-альфа
Table 2. Calculated pharmacokinetic parameters of the rhTNF-alpha drug

Исследуемый параметр, размерность Tested parameter, units	Краткое обозначение Symbol	Расчетная величина Calculated value	
		$ЭД_{min}$ ED_{min}	$ЭД_{max}$ ED_{max}
Площадь под кривой «концентрация–время», пг·ч/мл Area under the curve, pg·h/mL	AUC_{0-24}	351 213	724 453
Количество препарата, которое выводится в быстрой фазе (α-фаза), пг/мл Amount of drug eliminated during the rapid phase (α-phase), pg/mL	A_1	994 031	1 990 673
Количество препарата, которое выводится в медленной фазе (β-фаза), пг/мл Amount of drug eliminated during the slow phase (β-phase), pg/mL	A_2	360	2824
Комплексный параметр, пропорциональный константе скорости элиминации в быстрой фазе, $ч^{-1}$ Complex parameter proportional to the elimination rate constant in the rapid phase, h^{-1}	α	3,77	4,09
Комплексный параметр, пропорциональный константе скорости элиминации в медленной фазе, $ч^{-1}$ Complex parameter proportional to the elimination rate constant in the slow phase, h^{-1}	β	0,193	0,256
Время полураспределения препарата, ч Drug distribution half-life, h	$t^{\alpha}_{1/2}$	0,184	0,169
Время полувыведения препарата, ч Drug elimination half-life, h	$t^{\beta}_{1/2}$	3,59	2,71
Константа скорости выведения из центральной камеры (1) в камеру (2), $ч^{-1}$ Elimination rate constant from central compartment (1) to compartment (2), h^{-1}	k_{12}	0,024	0,080
Константа скорости выведения из периферической камеры (2) в камеру (1), $ч^{-1}$ Elimination rate constant from peripheral compartment (2) to compartment (1), h^{-1}	k_{21}	0,194	0,261
Константа скорости элиминации препарата, $ч^{-1}$ Elimination rate constant, h^{-1}	k_{el}	3,75	4,01
Стационарный объем распределения, мл Steady-state volume of distribution, mL	V_{ss}	2,88	3,34
Общий клиренс, мл/ч Total body clearance, mL/h	Cl_T	9,6	10,3

Примечание. $ЭД_{min}$ — минимальная эффективная доза; $ЭД_{max}$ — максимальная эффективная доза.
Note. ED_{min} — minimum effective dose; ED_{max} — maximum effective dose.

быстро выводился из крови в α-фазе процесса и медленно покидал русло крови в β-фазе. Время полураспределения $t^{\alpha}_{1/2}$ при введении обеих доз препарата было практически одинаковым, в то время как время полувыведения $t^{\beta}_{1/2}$ при введении дозы $ЭД_{min}$ было большим (на 0,88 ч, или 52 мин) по сравнению с показателем в группе с введением $ЭД_{max}$.

Значения стационарного объема распределения препарата V_{ss} не превышали объем внеклеточной жидкости животного (около 20 % массы тела), а константы скорости проникновения препарата из крови и высоковаскуляризированных тканей (условно отнесенных к «центральной камере») в периферические ткани («периферическая камера») k_{12} были в несколько раз ниже константы скорости обратного выведения k_{21}. Эти данные свидетельствует о слабом накоплении препарата в периферических тканях.

Константы скорости элиминации k_{el} значительно превосходили константы скорости выведения из центральной камеры k_{12}, что позволяет сделать заключение о преобладании процесса элиминации из организма над проникновением препарата в периферические ткани.

Полученные данные свидетельствуют о том, что дозы введенного препарата мало влияли на характер выведения препарата из организма мышей, что подтверждают фармакокинетические кривые (рис. 2).

В результате проверки гипотезы линейности было установлено, что свободный член уравнения линейной регрессии площади под кривой «концентрация–время» незначимо отличается от нуля (p = 0,0112), что позволяет сделать вывод о линейности фармакокинетики препарата в диапазоне использованных доз (рис. 3).

Данные распределения ФНО-альфа по органам и тканям представлены в таблице 3.

Анализ результатов показал, что удельное содержание ФНО-альфа в органах зависело от его дозы: уровень показателя в группе мышей, получавших большую дозу препарата, в основном был выше (табл. 3). Лишь в ткани мышцы значения показателя статистически не отличались от уровня фона на протяжении всего периода наблюдения, что свидетельствует об отсутствии у препарата способности к накоплению в скелетных мышцах после однократного внутривенного введения (данные не приведены).

Максимальное содержание ФНО-альфа после введения препарата в обеих дозах было обнаружено в исследуемых органах в основном в период с 0,08 до 0,5 ч. В последующие сроки значение показателя постепенно снижалось и к концу наблюдения приближалось к контрольному (фоновый уровень). Исключением были почки и печень, где концентрация белка в конечной точке наблюдения после введения $ЭД_{max}$ все еще превышала контрольное значение в 5,4 и 2,7 раза соответственно.

Динамика распределения ФНО-альфа в органах имела некоторые особенности в зависимости от дозы препарата. Так, в ткани почек животных группы $ЭД_{min}$ величина показателя колебалась в пределах 169–302 пг/г ткани в течение 4 ч после введения. В группе животных, получавших $ЭД_{max}$, в этот же период содержание ФНО-альфа в почках было примерно в два раза выше (267–680 пг/г ткани). Максимальные уровни ФНО-альфа в ткани кожи мышей второй опытной группы были отмечены в течение первого часа после введения (1793–2672 пг/г ткани) и превышали показатели первой группы в 8,6–14,6 раза. Удельное содержание белка в селезенке в течение первого часа наблюдения в группе $ЭД_{max}$ было выше, чем после введения $ЭД_{min}$, в 2,0–2,3 раза. В печени мышей первой опытной группы в период с 0,08 до 1 ч были обнаружены незначительные количества введенного ФНО-альфа, в то время как у животных второй группы уровень показателя в этот срок статистически значимо отличался от контроля.

Таким образом, анализ динамики распределения ФНО-альфа по тканям внутренних органов после введения препарата рчФНО-альфа показал, что наиболее высоким был уровень его накопления тканями селезенки, почек и кожи в течение первого часа после введения.

Это заключение было подтверждено рассчитанными фармакокинетическими параметрами, отражающими суммарную концентрацию, интенсивность проникновения и длительность удержания препарата периферическими тканями (табл. 4).

При сравнительном анализе оказалось, что показатель суммарной концентрации $AUC_{0–24}$ в органах в целом отражает прямую зависимость от дозы введенного препарата, хотя в ткани почек при введении большей дозы уровень параметра на 16 % ниже, что отразилось и на показателе тканевой доступности f_T.

Среднее время удержания препарата в крови *MRT* оказалось невысоким и составило 0,64 ч (38 мин) для обеих доз. В селезенке и коже этот показатель снижался при увеличении дозы рчФНО-альфа в 2 и 1,4 раза соответственно. Длительность удержания препарата почками составила 6–9 ч, тканью кожи — 2,5–3,6 ч. Наименьшее и наибольшее время присут-

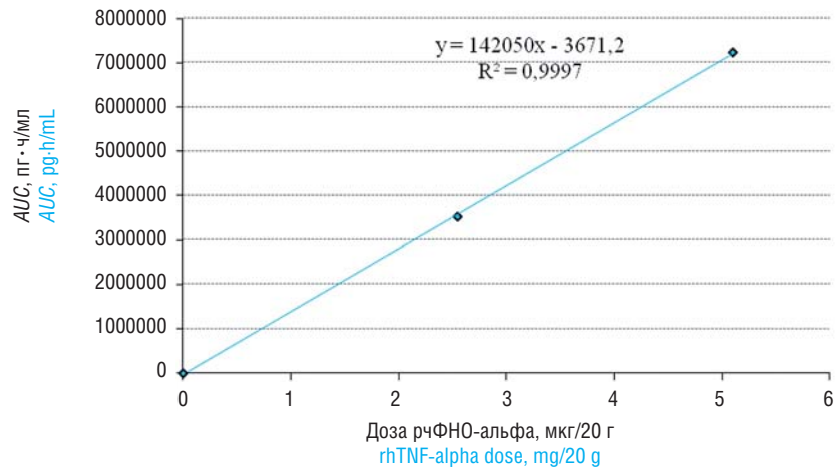


Рис. 3. Зависимость $AUC_{0–24}$ от дозы рчФНО-альфа в средстве доставки. *AUC* — площадь под кривой «концентрация–время».
Fig. 3. $AUC_{0–24}$ as a function of rhTNF-alpha dose in the delivery system. *AUC* — area under the curve.

Таблица 3. Удельное содержание ФНО-альфа (пг/г ткани) в органах и тканях мышей в разные сроки после однократного внутривенного введения препарата рчФНО-альфа
Table 3. Specific content of TNF-alpha (pg/g of tissue) in organs and tissues of mice at different time points after a single intravenous administration of the rhTNF-alpha drug

Орган/Ткань Organ/Tissue	Содержание ФНО-альфа (пг/г ткани) в органах и тканях мышей контрольных групп TNF-alpha content (pg/g of tissue) in organs and tissues of mice from the control groups	Доза препарата Drug dose	Содержание ФНО-альфа (пг/г ткани) в органах и тканях мышей опытных групп через … ч TNF-alpha content (pg/g of tissue) in organs and tissues of mice from the treatment groups after … h					
			0,02	0,08	0,5	1	4	24
Селезенка Spleen	2,00 ± 1,23	$ЭД_{min}$ ED_{min}	127 ± 17[a]	660 ± 75[a]	373 ± 33[a]	191 ± 12[a]	28,1 ± 2,6[a]	10,6 ± 5,2
	5,06 ± 3,49	$ЭД_{max}$ ED_{min}	168 ± 59[a]	1306 ± 23[a]	822 ± 163[a]	447 ± 28[a]	22,2 ± 6,7[a]	3,8 ± 2,8
Печень Liver	19,6 ± 15,9	$ЭД_{min}$ ED_{min}	0	114 ± 36	62,6 ± 33,5	0	7,6 ± 7,1	5,0 ± 5,0
	26,7 ± 13,0	$ЭД_{max}$ ED_{min}	73,1 ± 29,4	319 ± 50[a]	213 ± 37[a]	117 ± 37[a]	56,7 ± 23,1	71,4 ± 19,2
Почки Kidneys	22,4 ± 13,6	$ЭД_{min}$ ED_{min}	269 ± 23[a]	169 ± 27[a]	302 ± 23[a]	195 ± 21[a]	242 ± 36[a]	52,6 ± 30,4
	18,4 ± 11,4	$ЭД_{max}$ ED_{min}	267 ± 37[a]	680 ± 96[a]	539 ± 38[a]	446 ± 24[a]	86,2 ± 20,5[a]	99,4 ± 16,6[a]
Кожа Skin	7,96 ± 3,88	$ЭД_{min}$ ED_{min}	165 ± 10[a]	312 ± 71[a]	231 ± 49[a]	123 ± 16[a]	134 ± 42[a]	0
	20,8 ± 10,7	$ЭД_{max}$ ED_{min}	336 ± 32[a]	2672 ± 206[a]	2604 ± 311[a]	1793 ± 336[a]	263 ± 121	15,8 ± 15,8

[a] Статистически значимые отличия от контроля по *U*-критерию Манна-Уитни, $p \leq 0,05$.
[a] Statistically significant difference from control according to the Mann-Whitney *U*-test, $p \leq 0.05$.

Таблица 4. Фармакокинетические параметры распределения препарата рчФНО-альфа в крови и тканях внутренних органов мышей
Table 4. Pharmacokinetic parameters of rhTNF-alpha distribution in the blood and internal organ tissues of mice

Орган/Ткань Organ/Tissue	*AUC*, пг·ч/мл или пг·ч/г *AUC*, pg·h/mL or pg·h/g		*MRT*, ч *MRT*, h		$f_т$, %	
	$ЭД_{min}$ ED_{min}	$ЭД_{max}$ ED_{max}	$ЭД_{min}$ ED_{min}	$ЭД_{max}$ ED_{max}	$ЭД_{min}$ ED_{min}	$ЭД_{max}$ ED_{max}
Кровь (сыворотка) Blood (serum)	351213	724453	0,64	0,64	100	100
Селезенка Spleen	1053	1752	2,8	1,4	0,30	0,50
Печень Liver	44	1675	0,2	11,4	0,013	0,52
Почки Kidneys	3779	3179	6,0	9,0	1,08	0,91
Кожа Skin	3092	11139	3,6	2,5	0,88	3,17

Примечание. AUC — площадь под кривой «концентрация–время»; *MRT* — среднее время удержания препарата в крови; $f_т$ — тканевая доступность; $ЭД_{min}$ — минимальная эффективная доза; $ЭД_{max}$ — максимальная эффективная доза.
Note. AUC — area under the curve; *MRT* — mean residence time; $f_т$ — tissue availability; ED_{min} — minimum effective dose; ED_{max} — maximum effective dose.

ствия препарата среди всех исследованных органов было зарегистрировано в печени (0,2 ч для $ЭД_{min}$ и 11,4 ч для $ЭД_{max}$ соответственно).

Расчетные показатели тканевой доступности $f_т$ свидетельствуют о том, что наиболее высокие значения данного параметра были установлены для почек и кожи. Препарат не только сильнее в них накапливался, но и дольше удерживался, о чем свидетельствуют более высокие значения времени удержания *MRT*. Наименее проницаемой для рчФНО-альфа была ткань печени, при этом значение *MRT* при введении препарата в $ЭД_{max}$ оказалось наибольшим.

Следует отметить, что процесс элиминации препарата рчФНО-альфа после его однократного введения в исследованных дозах в основном завершался к концу первых суток. Рекомендуемый интервал времени введения препарата, основанный на результатах противоопухолевых исследований, составляет двое суток, что позволяет говорить о низкой вероятности кумуляции препарата в этих условиях. Однако окончательный вывод может быть сделан на основании сопоставления фармакокинетических данных, полученных при одно- и многократном введении препарата, а также результатов токсикологических экспериментов.

Заключение

На основании полученных результатов можно заключить, что препарат рчФНО-альфа в средстве доставки при однократном внутривенном введении в диапазоне эффективных противоопухолевых доз быстро элиминировался из кровеносного русла и распределялся по тканям внутренних органов мышей. Процесс элиминации препарата из крови носит двухфазный характер, при этом формы фармакокинетических кривых при введении двух уровней доз существенно не отличались друг от друга. Основными органами распределения препарата являлись кожа, почки и селезенка. Процесс элиминации препарата после его введения в исследованных дозах в основном завершался к концу первых суток после введения.

Благодарности. Исследование проводилось при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», Государственный контракт № 14.N08.12.0089 от 29.08.2016.

Acknowledgments. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the Federal Target Programme «Development of pharmaceutical and medical industry of the Russian Federation for the period up to 2020 and beyond», State Contract No. 14.N08.12.0089 of August 29, 2016.

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

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

Литература/References

1. Чубенко ВА. Иммунотерапия на основе цитокинов (ИЛ-1. ИЛ-2. ТНФ. КСФ. Интерфероны). *Практическая онкология.* 2016;17(2):99–109. [Chubenko VA. Immunotherapy is based on cytokines (IL-1, IL-2, FNO, CSF, IFN). *Prakticheskaya onkologiya = Practical oncology*. 2016;17(2):99–109 (In Russ.)]
2. Kalliolias GD, Ivashkiv LB. TNF biology, pathogenic mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(1):49–62. https://doi.org/10.1038/nrrheum.2015.169
3. Roberts NJ, Zhou S, Diaz LA Jr, Holdhoff M. Systemic use of tumor necrosis factor alpha as an anticancer agent. *Oncotarget*. 2011;2(10):739–51. https://doi.org/10.18632/oncotarget.344
4. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science*. 1986;234(4775):470–4. https://doi.org/10.1126/science.3764421
5. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC. Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin. *Science*. 1985;229(4716):869–71. https://doi.org/10.1126/science.3895437
6. Сысоева ГМ, Даниленко ЕД, Гамалей СГ, Батенева АВ, Романов ВП, Масычева ВИ. Противоопухолевые свойства композиционного препарата фактора некроза опухоли альфа с производными гематопорфирина. *Сибирский онкологический журнал.* 2010;6(42):36–41. [Sysoeva GM, Danilenko ED, Gamalei SG, Bateneva AV, Romanov VP, Masycheva VI. Anti-tumor activity of composite agent comprising tumor necrosis factor alpha with hematoporphyrin derivates. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal = Siberian Journal of Oncology*. 2010;6(42):36–41 (In Russ.)]
7. Лебедев ЛР, Даниленко ЕД, Телегина ЮВ, Зайцев БН. Противоопухолевое средство на основе фактора некроза опухоли с тропностью к костной ткани. *Биомедицинская химия.* 2015;61(5):652–6. [Lebedev LR, Danilenko ED, Telegina YuV, Zaitsev BN. An antitumor osteotropic agent based on tumor necrosis factor. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry*. 2015;61(5):652–6 (In Russ.)] https://doi.org/10.18097/PBMC20156105652
8. Сысоева ГМ, Батенева АВ, Лебедев ЛР, Волосникова ЕА, Иванова ОС, Левагина ГМ и др. Исследование цитотоксической активности рекомбинантного фактора некроза опухоли альфа в средствах адресной доставки и модулирующего эффекта интерферона гамма на клетках меланомы B16-F10. *Биофармацевтический журнал.* 2016;8(5):9–14. [Sysoeva GM, Bateneva AV, Lebedev LR, Volosnikova EA, Ivanova OS, Levagina GM, et al. Evaluation of cytotoxic activity of recombinant tumor necrosis factor alpha in targeted delivery devices and modulating effect of interferon gamma in B16-F10 melanoma cells. *Biofarmatsevticheskii zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2016;8(5):9–14 (In Russ.)]
9. Li M, Qin X, Xue X, Zhang C, Yan Z, Han W, et al. Safety evaluation and pharmacokinetics of a novel human tumor necrosis factor-alpha exhibited a higher antitumor activity and a lower systemic toxicity. *Anticancer Drugs*. 2010;21(3):243–51. https://doi.org/10.1097/CAD.0b013e328333d5ce
10. Gong J, Tan G, Sheng N, You W, Wang Z. Targeted treatment of liver metastasis from gastric cancer using specific binding peptide. *Am J Transl Res*. 2016;8(5):1945–56.
11. Xu G, Gu H, Hu B, Tong F, Liu D, Yu X, et al. PEG-*b*-(PELG-*g*-PLL) nanoparticles as TNF-α nanocarriers: potential cerebral ischemia/reperfusion injury therapeutic applications. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:2243–54. https://doi.org/10.2147/IJN.S130842
12. Karpenko LI, Lebedev LR, Ignatyev GM, Agafonov AP, Poryvaeva VA, Pronyaeva TR, et al. Construction of artificial virus-like particles exposing HIV epitopes, and the study of their immunogenic properties. *Vaccine*. 2003;21(5–6):386–92. https://doi.org/10.1016/S0264-410X(02)00406-1
13. Лебедев ЛР, Азаев МШ, Туманов ЮВ, Сизов АА, Ильичев АА, Татьков СИ. Искусственные микобактериальные частицы для иммунизации против туберкулеза. *Доклады Академии наук.* 2002;387(2):272–5. [Lebedev LR, Azaev MSh, Tumanov YuV, Sizov AA, Il'ichev AA, Tat'kov SI. Artificial mycobacterial particles for immunization against tuberculosis. *Doklady Akademii Nauk = Reports of the Academy of Sciences*. 2002;387(2):272–5 (In Russ.)]
14. Масычева ВИ, Лебедев ЛР, Даниленко ЕД, Сысоева ГМ, Гамалей СГ. Противоопухолевое средство на основе наночастиц, несущих рекомбинантный фактор некроза опухоли альфа человека. Патент Российской Федерации № 2386447; 2008. [Masycheva VI, Lebedev LR, Danilenko ED, Sysoeva GM, Gamaley SG. Anticancer drug based on nanoparticles bearing recombinant human tumor necrosis factor alpha. Patent of the Russian Federation No. 2386447; 2008 (In Russ.)]
15. Масычева ВИ, Даниленко ЕД, Сысоева ГМ, Батенева АВ, Устименко СЮ, Акулова НИ и др. Конструирование нанобиопрепарата, содержащего фактор некроза опухоли альфа человека. В кн.: *Материалы Пятого международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития»*. М.; 2009. Ч. 1. С. 456. [Masycheva VI, Danilenko ED, Sysoeva GM, Ustimenko SYu, Akulova NI, et al. Construction of the nanobiopreparation containing human tumor necrosis factor alpha. In: *Materials of the fifth International Congress «Biotechnology: State of the Art and prospects of development«*. Moscow; 2009. Part 1. P. 456 (In Russ.)]
16. Даниленко ЕД, Левагина ГМ, Волосникова ЕА, Лебедев ЛР, Сысоева ГМ, Вязовая ЕА. Противоопухолевое средство на основе биодеградируемых наночастиц, не-

сущих рекомбинантный фактор некроза опухоли альфа человека. Патент Российской Федерации № 2691938; 2018. [Danilenko ED, Levagina GM, Volosnikova EA, Lebedev LR, Sysoeva GM, Vyazovaya EA. Antitumour agent based on biodegradable nanoparticles carrying a recombinant human tumor necrosis factor alpha. Patent of the Russian Federation No. 2691938; 2018 (In Russ.)]
17. Гамалей СГ, Батенева АВ, Сысоева ГМ, Даниленко ЕД, Лебедев ЛР, Масычева ВИ. Фармакокинетика и противоопухолевые свойства препарата, содержащего ФНО-α в составе наночастиц. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010;149(3):296–9. [Gamaley SG, Bateneva AV, Sysoeva GM, Danilenko ED, Lebedev LR, Masycheva VI. Pharmacokinetics and antitumor effects of the drug containing TNF-α in nanoparticles. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2010;149(3):296–9 (In Russ.)]. https://doi.org/10.1007/s10517-010-0937-9
18. Сысоева ГМ, Гамалей СГ, Лебедев ЛР, Нуштаева АА, Даниленко ЕД, Левагина ГМ. Исследование противоопухолевой активности молекулярной конструкции фактора некроза опухоли *in vitro* и *in vivo*. *Медицинская иммунология.* 2015;17(S):425. [Sysoeva GM, Gamaley SG, Lebedev LR, Nushtaeva AA, Danilenko ED, Levagina GM. Study on the antitumor activity of the molecular construct of tumor necrosis factor *in vitro* and *in vivo*. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia).* 2015;17(S):425 (In Russ.)]
19. Сысоева ГМ, Зуева ЕП, Попова НА, Каледин ВИ, Симакова ОВ, Гамалей СГ и др. Противоопухолевая эффективность рекомбинантного фактора некроза опухоли альфа человека в системе доставки. *Acta Naturae.* 2017;спецвыпуск:165. [Sysoeva GM, Zueva EP, Popova NA, Kaledin VI, Simakova OV, Gamaley SG, et al. Antitumor efficacy of recombinant human tumor necrosis factor alpha within the delivery system. *Acta Naturae.* 2017;special issue:165 (In Russ.)]
20. Соловьев ВН, Фирсов АА, Филов ВА, ред. *Фармакокинетика*. М.: Медицина; 1980. [Soloviev VN, Firsov AA, Filov VA, eds. *Pharmacokinetics.* Moscow: Meditsina; 1980 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Батенева Алена Владимировна. *Alena V. Bateneva*. **ResearcherID:** A-8050-2014

Симакова Ольга Владимировна. *Olga V. Simakova*. **ORCID:** https://orcid.org/0000-0002-1222-7574

Гамалей Светлана Георгиевна. *Svetlana G. Gamaley*. **ResearcherID:** B-7418-2014

Волосникова Екатерина Александровна, канд. биол. наук. *Ekaterina A. Volosnikova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-5028-5647

Лебедев Леонид Рудольфович, д-р мед. наук. *Leonid R. Lebedev,* Dr. Sci. (Med.). **ResearcherID:** C-8596-2014

Даниленко Елена Дмитриевна, канд. биол. наук. *Elena D. Danilenko,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-5026-1602

Поступила 01.07.2019
После доработки 02.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 1 July 2019
Revised 2 August 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 616.24-002.5-036.3
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-178-184

ШИФР СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
14.03.10 Клиническая лабораторная диагностика
14.01.16 Фтизиатрия

CC BY 4.0

Диагностика латентной туберкулезной инфекции в учреждениях различного профиля и формирование группы риска по заболеванию туберкулезом

А. А. Старшинова[1,*], Ю. С. Зинченко[1,2], Е. В. Истомина[1], Н. Ю. Басанцова[1,2], М. В. Филатов[1,3], Е. Н. Беляева[1,5], М. М. Назаренко[1,4], С. Б. Ланда[3], В. С. Бурдаков[1,3], М. В. Павлова[1], Д. Ю. Алексеев[7], Д. А. Кудлай[6], П. К. Яблонский[1,2]

[1]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», Университетская наб., д. 7–9, Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация

[2]Федеральное государственное бюджетное учреждение «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Лиговский пр-т, д. 2–4, Санкт-Петербург, 191036, Российская Федерация

[3]Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», мкр. Орлова роща, д. 1, Гатчина, 188300, Российская Федерация

[4]Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Пушкинский противотуберкулезный диспансер», Павловское шоссе, д. 14, Пушкин, 196602, Российская Федерация

[5]Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская туберкулезная больница № 2», пр-т Тореза, д. 93, Санкт-Петербург, 194214, Российская Федерация

[6]Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Каширское шоссе, д. 24, Москва, 115478, Российская Федерация

[7]Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Межрайонный Петроградско-Приморский противотуберкулезный диспансер № 3», ул. Студенческая, д. 16, лит. А, Санкт-Петербург, 197343, Российская Федерация

Ранняя диагностика туберкулеза остается крайне важной для своевременного выявления заболевания и контроля за его распространением. В настоящее время диагностика латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) существенно улучшилась в связи с применением новых иммунологических тестов, к которым относится проба с Диаскинтестом. **Цель работы:** изучение возможности иммунологических методов в диагностике латентной туберкулезной инфекции и в формировании групп риска по развитию заболевания у сотрудников учреждений различного профиля. **Материалы и методы:** с 2015 по 2018 год было проведено проспективное исследование по типу группа–контроль с обследованием сотрудников учреждений различного профиля (n = 154) и здоровых лиц (n = 30). Обследованные лица значимо не отличались по возрасту. У всех включенных в исследование лиц был собран анамнез, проведен общий осмотр, проведена проба с Диаскинтестом и флюорографическое обследование. При получении положительного результата по пробе с Диаскинтестом проводилась мультиспиральная компьютерная томография органов грудной клетки. **Результаты:** сравнение числа лиц с ЛТИ в учреждениях общего профиля, у работников предприятия и здоровых лиц показало, что риск инфицирования микобактериями туберкулеза во всех группах примерно одинаков (от 6,8 до 10,0 %). Наиболее высокий риск развития ЛТИ — у лиц с длительностью работы в очаге туберкулезной инфекции более 5 лет (48,4 %). Определение уровня иммунных комплексов показало, что у лиц с ЛТИ не должно быть изотипов иммунных комплексов IgG3 и IgE, которые определяются у больных туберкулезом. Выявление данных изотипов свидетельствует о пограничном состоянии между ЛТИ и заболеванием туберкулезом, что требует проведения лечебных мероприятий. **Выводы:** применение пробы с Диаскинтестом позволяет формировать группы риска по развитию туберкулезной инфекции у сотрудников учреждений различного профиля. При этом диагностика иммунного комплекса позволяет выявить пограничное состояние, которое требует проведения лечебных мероприятий.

Ключевые слова: латентная туберкулезная инфекция; проба с Диаскинтестом; учреждения фтизиатрического профиля; диагностика туберкулеза; группа риска; пограничное состояние; иммунные комплексы

Для цитирования: Старшинова АА, Зинченко ЮС, Истомина ЕВ, Басанцова НЮ, Филатов МВ, Беляева ЕН, Назаренко ММ, Ланда СБ, Бурдаков ВС, Павлова МВ, Алексеев ДЮ, Кудлай ДА, Яблонский ПК. Диагностика латентной туберкулезной инфекции в учреждениях различного профиля и формирование группы риска по заболеванию туберкулезом. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(3):178–184. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-178-184

*__Контактное лицо:__ Старшинова Анна Андреевна; starshinova_777@mail.ru

Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection in Personnel of Various Institutions and Determination of the Risk Group for Tuberculosis

A. A. Starshinova[1,*], Yu. S. Zinchenko[1,2], E. V. Istomina[1], N. Yu. Basantsova[1,2], M. V. Filatov[1,3], E. N. Belyaeva[1,5], M. M. Nazarenko[1,4], S. B. Landa[3], V. S. Burdakov[1,3], M. V. Pavlova[1], D. Yu. Alekseev[7], D. A. Kudlay[6], P. K. Yablonskiy[1,2]

[1]St. Petersburg State University,
7–9 Universitetskaya Embankment, St. Petersburg 199034, Russian Federation

[2]St. Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology,
2–4 Ligovsky Prospect, St. Petersburg 191036, Russian Federation

[3]St. Petersburg Institute of Nuclear Physics named after B. P. Konstantinov of the National Research Centre «Kurchatov Institute»,
1 Orlova Roshcha, Gatchina 188300, Russian Federation

[4]Pushkin TB Dispensary,
14 Pavlovskoye Highway, Pushkin 196602, Russian Federation

[5]Municipal Tuberculosis Hospital No. 2,
93 Toreza Avenue, St. Petersburg 194214, Russian Federation

[6]National Research Center — Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency,
24 Kashirskoye Highway, Moscow 115478, Russian Federation

[7]Interdistrict Petrograd-Primorsky TB Dispensary No. 3,
16A Studencheskaya St., St. Petersburg 197343, Russian Federation

Early diagnosis of tuberculosis remains essential for the prevention of the disease and control of its incidence. The diagnosis of latent tuberculosis infection (LTBI) has significantly improved over the last years due to the use of new immunological tests, including the Diaskintest. **The aim of the study** was to assess the potential of immunological assays for diagnosis of latent tuberculosis infection and determination of risk groups for tuberculosis among personnel of different institutions. **Materials and methods:** in 2015–2018, a prospective group-control study was conducted that included employees of various medical centres (n = 154) and healthy individuals (n = 30). There were no significant age differences between the subjects. All the subjects included in the study shared their medical history, underwent general examination, X-ray examination, and were tested with Diaskintest. Multispiral computed tomography (MSCT) of the chest was performed for every subject with a positive Diaskintest result. **Results:** the comparison of the number of persons with LTBI in general care hospitals, personnel of a manufacturing firm, and among healthy individuals showed that the risk of being infected with *Mycobacterium tuberculosis* is very similar in all the groups (from 6.8 to 10.0 %). The highest risk of developing LTBI was found in people who worked in an infectious area for more than 5 years (48.4 %). The analysis of the level of immune complexes (ICs) demonstrated that individuals with LTBI did not have isotypes of IgG3 and IgE immune complexes, which are found in patients with tuberculosis. The identification of particular isotypes indicates a borderline state between LTBI and tuberculosis and requires therapeutic intervention. **Conclusions:** the use of the Diaskintest makes it possible to distinguish groups of employees of various institutions who are at a higher risk of developing tuberculosis. At the same time, determination of the ICs helps to reveal the borderline condition which requires medical intervention.

Key words: latent tuberculosis infection; Diaskintest; tuberculosis institutions; diagnosis of tuberculosis; risk group; borderline state; immune complexes

For citation: Starshinova AA, Zinchenko YuS, Istomina EV, Basantsova NYu, Filatov MV, Belyaeva EN, Nazarenko MM, Landa SB, Burdakov VS, Pavlova MV, Alekseev DYu, Kudlay DA, Yablonskiy PK. Diagnosis of latent tuberculosis infection in personnel of various institutions and determination of the risk group for tuberculosis. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreperations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(3):178–184. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-178-184
***Corresponding author:** Anna A. Starshinova; starshinova_777@mail.ru

Туберкулез по-прежнему остается смертельно опасной инфекцией, в 2017 году унесшей 1 млн 300 тысяч жизней[1]. Известно, что, несмотря на значительную долю инфицированных микобактерией туберкулеза (МБТ) людей, составляющую примерно одну треть населения земного шара, только в 5–10 % случаев происходит развитие туберкулеза в той или иной клинической форме [1, 2]. У остальных же инфекция носит латентный, бессимптомный характер. Однако, несмотря на повсеместно проводимую работу по борьбе с туберкулезом и совершенствование методов его диагностики и лечения, эпидемическая ситуация по туберкулезу остается весьма напряженной [3, 4].

Осуществлять контроль за распространением туберкулезной инфекции без раннего выявления заболевания не представляется возможным [5, 6]. В последние годы к диагностике латентной туберкулезной инфекции (ЛТИ) приковано особое внимание, в том числе благодаря внедрению различных иммунологических методов [7].

Сегодня мировым сообществом признано, что подавляющее большинство инфицированных микобактериями людей не имеет признаков или симптомов туберкулеза, но подвергается риску развития этого заболевания. Последнее обстоятельство делает необходимым проведение таким людям про-

[1] Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом 2018 год. ВОЗ. https://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2018_executive_summary_ru.pdf?ua=1

филактического лечения [2] — прием противотуберкулезных препаратов в течение 2–3 месяцев.

Внедрение иммунологических тестов нового поколения *in vitro* — IGRA-тесты (QuantiFERON (QFT)-TBGold, QuantiFERON (QFT-Plus)-TBGoldPlus, T-SPOT.TB тест) и *in vivo*: проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест, или ДСТ), CTb-тест, — стало возможным благодаря открытию группы белков, кодируемых в зоне RD1 (region of difference), названных ESAT-6 и CFP-10. Эти белки экспрессируются только при размножении микобактерий, что позволило, используя новые тесты, с высокой эффективностью проводить диагностику ранних проявлений активности ЛТИ [7–9]. Применение данных тестов дало возможность на другом уровне определять активность туберкулезной инфекции и, таким образом, дифференцированно подходить к назначению профилактического лечения [10–14].

До настоящего времени не существует «золотого стандарта» для выявления *Mycobacterium tuberculosis* в организме человека, но определены периоды развития ЛТИ от начала инфицирования микобактериями до развития активного иммунного ответа[2]. Признано, что у взрослого населения наиболее целесообразно проведение ранней диагностики туберкулеза в группах риска, к которым, в частности, относятся медицинские работники. Среди медицинских работников группу, требующую особого внимания, составляют сотрудники организаций фтизиатрического профиля [1, 15, 16]. В то же время отсутствуют четкие данные об уровне ЛТИ у работников медицинских организаций различного профиля, как и у взрослого населения в целом [17]. Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест) является наиболее оптимальным методом массового скрининга ЛТИ [13, 15, 18]. Однако нет четких рекомендаций по наблюдению и ведению сотрудников различных учреждений с учетом результатов пробы с ДСТ.

Таким образом, в настоящее время необходимо изменение подхода к диагностике туберкулезной инфекции у сотрудников медицинских учреждений с учетом внедрения пробы с Диаскинтестом, а также выявления у лиц с ЛТИ дополнительных прогностических иммунологических критериев развития заболевания, позволяющих определить группу высокого риска по туберкулезу и разработать рекомендации по дифференцированному подходу в выборе профилактических и диагностических мероприятий с учетом полученных данных, что является своевременным и актуальным. Необходимость разработки новой тактики по раннему выявлению туберкулезной инфекции у медицинских работников явилась основанием для проведения данного исследования.

Цель работы — изучение возможности иммунологических методов в диагностике латентной туберкулезной инфекции и в формировании групп риска по развитию заболевания у сотрудников учреждений различного профиля.

Материалы и методы

С 2015 по 2018 г. было проведено проспективное исследование по типу группа–контроль с набором клинического материала на базах ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России, ГБУЗ «Городская туберкулезная больница № 2», ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», ГБУЗ «Противотуберкулезный диспансер № 5», ФГБОУ ВО «Первый СПб ГМУ им. академика И. П. Павлова» Минздрава России и на предприятии АО «Концерн «Океанприбор» Санкт-Петербурга.

В исследовании проводился анализ клинических, иммунологических, лабораторных данных у сотрудников медицинских организаций (n = 154) (фтизиатрического (n = 102) — I группа и общего профиля (n = 52) — II группа), а также работников предприятия (n = 73) — III группа и здоровые лица (n = 30) — IV группа.

Исследование было одобрено независимым этическим комитетом ФГБУ «СПб НИИФ» Минздрава России (выписка № 27.3, исходящий № 56 от 05.02.2016), все участники исследования подписали информированное согласие.

У всех включенных в исследование лиц был собран анамнез, проведен общий осмотр, проведена проба с Диаскинтестом и флюорографическое обследование. При получении положительного результата по пробе с Диаскинтестом проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) органов грудной клетки.

Проба с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (проба с Диаскинтестом) проводилась после забора крови для иммунологических исследований. Аллерген вводили строго внутрикожно. Считывание результата осуществляли через 72 ч путем измерения диаметра папулы в месте инъекции.

Согласно инструкции при наличии папулы любого размера результаты пробы интерпретировали как положительные. Наличие гиперемии при отсутствии папулы расценивалось как сомнительная реакция на пробу. Положительная реакция на пробу рассматривалась при размере папулы более $\geq$ 5 мм.

Определение иммунных комплексов (ИК) проводили в лаборатории ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова» с помощью метода динамического светорассеяния (ДСР) по предложенной методике [19]. Измерения проводили на лазерном корреляционном спектрометре (сертификат RU. C. 39.003. А № 5381) ЛКС-03 (ООО ИНТОКС МЕД, Россия) [20, 21].

Метод ДСР позволяет определить входящие в состав ИК компоненты без выделения комплексов из плазмы и определить крупные частицы, которыми являются ИК [20].

Полученную от пациентов плазму крови разбавляли в 4 раза фосфатным буфером, содержащим 10 мМ этилендиамин-тетрауксусной кислоты, центрифугировали в течение 15 мин при 15 000 об/мин и фильтровали через фильтр с размерами пор 100 нм для удаления всех частиц и белковых агрегатов, превышающих данный размер. Измерение ДСР полученного препарата должно показывать отсутствие каких-либо образований, превышающих по размеру 100 нм.

В полученные образцы плазмы объемом 400 мкл добавляли 10 мкл приготовленного антигена. В качестве специфического туберкулезного антигена применяли ESAT-6/SFP-10 (АО «Генериум», Россия).

Для статистического анализа данных использовали методы, доступные в программе Stata 14 (StataCorp, США) [22]. При обработке результатов также использовали методы описательной статистики, характеризующей субъекты, включенные в исследование. Для количественных параметров оценивали арифметическое среднее (Mean), стандартное отклонение (SD), 95 % доверительный интервал (ДИ) для среднего. Для качественных переменных анализировали абсолютное количество случаев в формате n/N. Различия в группах считали достоверными при уровне статистических различий $p < 0{,}05$.

[2] Latent TB Infection: Updated and consolidated guidelines for programmatic management (WHO/CDS/TB/2018.4). WHO; 2018. https://www.who.int/tb/publications/2018/latent-tuberculosis-infection/en/

Результаты и обсуждение

На сегодняшний день с появлением новых иммунологических тестов появилась возможность выявления ЛТИ и определения группы высокого риска по развитию активного туберкулеза у медицинских сотрудников, работающих в учреждениях различного профиля.

Возраст включенных в группы сотрудников не имел значимых различий: 42,0 ± 0,23 (гр. I); 43,0 ± 0,27 (гр. II); 47,79 ± 0,29 (гр. III); 39,0 ± 0,3 (гр. IV) лет соответственно. У сотрудников учреждений фтизиатрического профиля в 11,6 % (19 человек) случаев рентгенологически были выявлены остаточные посттуберкулезные изменения в легких, тогда как у медицинских работников в учреждениях общего профиля подобные изменения встречались в два раза реже (5,8 %). Необходимо отметить, что у работников предприятия (гр. III) остаточные посттуберкулезные изменения имели место в 4,1 % случаев.

Результаты выявления ЛТИ на основании пробы с Диаскинтестом представлены в таблице 1.

Анализ результатов, представленных в таблице 1, показал, что у сотрудников учреждений фтизиатрического профиля ЛТИ ожидаемо выявлялась достоверно чаще, чем в других группах.

Сравнение числа лиц с ЛТИ в учреждениях общего профиля, у работников предприятия и здоровых лиц показывает, что риск инфицирования МБТ во всех группах примерно одинаков (от 6,8 до 10,0 %). Данный показатель, как известно, зависит от общей эпидемической ситуации по туберкулезу в регионе и будет снижаться при ее улучшении [9].

Одним из факторов, влияющим на развитие ЛТИ, может быть длительность пребывания в контакте с больным туберкулезом. На следующем этапе исследования проводилось выявление ЛТИ у сотрудников учреждения фтизиатрического профиля с различным стажем работы (табл. 2).

Согласно представленным в таблице 2 данным, отмечается достоверная разница между результатами внутрикожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным у сотрудников в зависимости от длительности работы в учреждении. Наиболее высокий риск развития ЛТИ отмечен при длительности работы в очаге туберкулезной инфекции более 5 лет: процент положительных реакций на пробу выявлен у 48,4 % сотрудников. Этот показатель находится в прямой корреляционной зависимости (r = +0,78) от стажа работы сотрудников.

Очевидно, что результаты пробы с Диаскинтестом уже позволяют выявить группу лиц с ЛТИ — группу наибольшего риска по развитию активного туберкулеза, в которой требуется про-

Таблица 1. Сравнительная оценка положительных результатов пробы с Диаскинтестом у сотрудников медицинских учреждений различного профиля, работников предприятия и здоровых лиц
Table 1. Comparison of the number of positive Diaskintest results in employees of various medical centres, a manufacturing firm, and healthy individuals

Группа обследованных лиц Group of subjects	ДСТ, *n* (%) DST, *n* (%)	RR	χ^2	*p*
Сотрудники учреждений фтизиатрического профиля (*n* = 102) — группа I Employees of tuberculosis institutions (*n* = 102) — group I	31 (30,4)	0,43	-	-
Сотрудники учреждений общего профиля (*n* = 52) — группа II Employees of general care hospitals (*n* = 52) — group II	5 (9,6)	0,11	8,83[a]	<0,001
Работники предприятия (*n* = 73) — III группа Employees of a manufacturing firm (*n* = 73) — group III	5 (6,8)	0,04	15,19[b]	<0,001
Здоровые лица (*n* = 30) — IV группа Healthy individuals (*n* = 30) — group IV	3 (10,0)	0,11	5,72[c]	<0,01

Примечание. ДСТ — Диаскинтест; RR — ratio risk; χ^2 – критерий хи-квадрат; *p* — показатель достоверности различий.
[a] Достоверные различия между I и II группами; [b] достоверные различия между I и III группами; [c] достоверные различия между II и IV группами.
Note. DST — Diaskintest; RR — ratio risk; χ^2 — chi-square test; *p* — reliability of the difference.
[a] Significant differences between groups I and II; [b] significant differences between groups I and III; [c] significant differences between groups II and IV.

Таблица 2. Результаты пробы с Диаскинтестом у сотрудников учреждений фтизиатрического профиля с различным стажем работы
Table 2. Diaskintest results in employees of tuberculosis institutions with different work record

Длительность работы сотрудников в учреждении фтизиатрического профиля Work record of tuberculosis institution employees	Положительные результаты пробы с ДСТ Positive Diaskintest results			
	ДСТ, *n* (%) DST, *n* (%)	RR	χ^2	*p*
От 1 года до 2 лет (*n* = 15) 1–2 years (*n* = 15)	1 (7,1)	0,07	-	-
От 3 до 5 лет (*n* = 24) 3–5 years (*n* = 24)	7 (29,2)	0,41	3,05	<0,1
Более 5 лет (*n* = 62) More than 5 years (*n* = 62)	30 (48,4)[a]	0,94	9,33	<0,01

Примечание. ДСТ — Диаскинтест; RR — ratio risk; χ^2 — критерий хи-квадрат; *p* — показатель достоверности различий.
[a] Достоверная разница между положительными результатами пробы с ДСТ у сотрудников, работающих в учреждении от 1 года до 2 лет и стажем работы более 5 лет.
Note. DST — Diaskintest; RR — ratio risk; χ^2 — chi-square test; *p* — reliability of the difference.
[a] Significant difference between positive Diaskintest results in employees with the work record of 1–2 years and the work record of more than 5 years.

Таблица 3. Определение специфических иммунных комплексов у сотрудников учреждения фтизиатрического профиля с различным стажем работы
Table 3. Determination of specific immune complexes in employees of tuberculosis institutions with different work record

Показатель Test parameter	Норма Norm	M ± SD/n (%) при стаже работы в учреждении M ± SD/n (%) for the work record of		
		от 1 года до 2 лет (*n* = 10) 1–2 years (*n* = 10)	от 3 до 5 лет (*n* = 11) 3–5 years (*n* = 11)	более 5 лет (*n* = 22) more than 5 years (*n* = 22)
Суммарные иммунные комплексы Total immune complexes	<1,0	2,38 ± 2,8 10 (100,0)	2,38 ± 2,8 10 (100,0)	2,64 ± 0,7 22 (100,0)
IgG1	<1,0	2,64 ± 2,0 10 (100,0)	3,32 ± 2,8 10 (100,0)	2,86 ± 0,3 22 (100,0)
IgG3	<1,0	2,9 1 (10,0)	0	6,3 1 (4,5)
IgE	<1,0	1,1 1 (10,0)	0	1,2 1 (4,5)
IgG1 + IgG3	<1,0	3,3 1 (10,0)	0	6,3 1 (4,5)
IgG1 + IgE	<1,0	0	0	0
IgG3 + IgE	<1,0	0	0	0

Примечание. M ± SD — арифметическое среднее и стандартное отклонение; *n* — число обследованных лиц.
Note. M ± SD — mean and standard deviation; *n* — number of subjects examined.

ведение превентивных мероприятий. Однако с целью выявления лиц, имеющих больший риск развития туберкулеза, был проведен анализ уровня специфических иммуноглобулинов с применением метода ДСР у сотрудников с различным стажем работы в условиях учреждений фтизиатрического профиля (табл. 3).

Как видно при анализе данных, представленных в таблице 3, у всех обследованных лиц определялись специфические ИК и IgG, которые характеризуют иммунный ответ на наличие МБТ в организме. Однако, согласно полученным ранее данным, у лиц с ЛТИ не должно быть изотипов ИК IgG3 и IgE, которые определяются у больных туберкулезом [17]. При этом у одного сотрудника со стажем работы 1–2 года при положительной пробе с Диаскинтестом определялись IgG3 (2,9), IgE (1,1) и IgG1 + IgG3 (3,3) выше диагностического титра, а также у одного сотрудника со стажем работы более пяти лет определялись аналогичные ИК с еще более высоким уровнем IgG3 (6,3), IgE (1,2) и IgG1 + IgG3 (6,3), что соответствует пограничному состоянию между ЛТИ и заболеванием туберкулезом. Определение ИК, стимулированных специфическим антигеном, позволяет провести диагностику переходного этапа ЛТИ к заболеванию, но без локальных проявлений. По нашему мнению, данное состояние требует не превентивных, а лечебных мероприятий.

Заключение

Таким образом, чаще всего латентная туберкулезная инфекция выявляется у лиц, работающих в учреждениях фтизиатрического профиля, что является закономерным с учетом работы в очаге туберкулезной инфекции. При этом показатель выявления ЛТИ в медицинских учреждениях общего профиля не отличается от такового в группе здоровых лиц и работников предприятия, где рентгенологическое обследование проходят ежегодно. С применением пробы с Диаскинтестом возможно формирование группы риска по развитию туберкулезной инфекции, в которую входит 30,4 % группы обследованных этой пробой. Требуется специализированное обследование этих лиц с применением других иммунологических методов и решение вопроса о проведении превентивной терапии. Кроме того, определение уровня специфических иммуноглобулинов позволяет диагностировать у лиц с ЛТИ пограничное состояние, которое требует проведения не превентивных, а лечебных мероприятий для предотвращения развития туберкулеза независимо от стажа работы сотрудника в очаге инфекции. Проведение иммунодиагностики может заменить ежегодное флюорографическое обследование и снизить лучевую нагрузку у медицинских работников различного профиля, а также определить группу лиц, требующих углубленного обследования и последующего длительного наблюдения.

Благодарности. Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

Acknowledgments. The study was conducted without external funding.

Конфликт 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. Bothamley G. The Tuberculosis Network European Trials Group (TBNET): new directions in the management of tuberculosis. *Breathe (Sheff)*. 2017;13(3):e65–e71. https://doi.org/10.1183/20734735.005517
2. Dhega K, Gumbo T, Gandhi NR, Murray M, Theron G, Udwadia Z, et al. Global control of tuberculosis: from extensively drug-resistant to untreatable tuberculosis. *Lancet Respir Med*. 2014;2(4):321–38. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70031-1
3. Нечаева ОБ. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России. *Туберкулез и болезни легких*. 2018;96(8):15–24. [Nechaeva OB. TB situation in Russia. *Tuberkulez i bolezni legkikh = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018;96(8):15–24 (In Russ.)] https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-8-15-24
4. Zellweger J-P. Current options for the management of multidrug-resistant tuberculosis (review). *Медицинский альянс*. 2017;1:22–8. [Zellweger J-P. Current options for the management of multidrug-resistant tuberculosis (review). *Meditsinskii al'yans = Medical Alliance*. 2017;1:22–8 (In Russ.)]
5. Зинченко ЮС, Басанцова НЮ, Старшинова АЯ, Умутбаева ГБ, Чурилов ЛП. Туберкулез сегодня: основные направления исследований по профилактике, диагностике

и лечению. *Российские биомедицинские исследования*. 2018;3(4):24–34. [Zinchenko YuS, Basancova NYu, Starshinova AYa, Umutbaeva GB, Churilov LP. Tuberculosis today: the main trends of research on prevention, diagnosis and treatment. *Rossiiskie biomeditsinskie issledovaniya = Russian Biomedical Research*. 2018;3(4):24–34 (In Russ.)]

6. Старшинова АА, Павлова МВ, Довгалюк ИФ, Овчинникова ЮЭ, Ялфимов АН. Влияние факторов риска на развитие и течение туберкулезной инфекции у детей из семейного контакта в современной социально-эпидемической ситуации. *Туберкулез и болезни легких*. 2010;87(6):34–9. [Starshinova AA, Pavlova MV, Dovgalyuk IF, Ovchinnikova YuE, Yalfimov AN. Influence of risk factors on the development and course of tuberculosis infection in children from family contact in the present-day socioepidemiological situation. *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2010;87(6):34–9 (In Russ.)]
7. Аксенова ВА, Барышникова ЛА, Клевно НИ, Сокольская ЕА, Долженко ЕН, Шустер А и др. Новые возможности скрининга и диагностики различных проявлений туберкулезной инфекции у детей и подростков в России. *Вопросы современной педиатрии*. 2011;10(4):16–22. [Aksenova VA, Baryshnikova LA, Klevno NI, Sokol'skaya EA, Dolzhenko EN, Shuster A, et al. New screening and diagnostic options of various traits of TB infection among children and adolescents in Russia. *Voprosy sovremennoj pediatrii = Current Pediatrics*. 2011;10(4):16–22 (In Russ.)]
8. Васильева ЕА, Вербов НВ, Тотолян АА. Иммунологические методы в дифференциальной диагностике активного туберкулеза легких и латентной туберкулезной инфекции. *Медицинский альянс*. 2015;1:92–3. [Vasil'eva EA, Verbov NV, Totolyan AA. Immunological methods in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis and latent tuberculosis infection. *Meditsinskii al'yans = Medical Alliance*. 2015;1:92–3 (In Russ.)]
9. Слогоцкая ЛВ. Кожные иммунологические пробы при туберкулезе — история и современность. *Туберкулез и болезни легких*. 2013;(5):39–46. [Slogotskaya LV. Immunological skin test in tuberculosis — history and the present. *Tuberkulez i bolezni legkih = Tuberculosis and Lung Diseases*. 2013;5:39–46 (In Russ.)]
10. Моисеева НН, Одинец ВС. Анализ результатов применения аллергена туберкулезного рекомбинантного «Диаскинтеста» для массовой диагностики. *Медицинский альянс*. 2015;1:132–3. [Moiseeva NN, Odinec VS. Analysis of the results of the use of the recombinant «Diaskintest» tuberculosis allergen for mass diagnostics. *Meditsinskii al'yans = Medical Alliance*. 2015;1:132–3 (In Russ.)]
11. Slogotskaya LV, Litvinov V, Ovsyankina E, Seltsovsky P, Kudlay DA. Results of QuantiFeron-TB Gold in tube and skin testing with recombinant proteins CFP-10-ESAT-6 in children and adolescents with TB or latent TB. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2013;14(2):S65.
12. Slogotskaya LV, Bogorodskaya E, Ivanova D, Makarova M, Guntupova L, et al. Sensitivity and specificity of new skin test with recombinant protein CFP10-ESAT6 in patients with tuberculosis and individuals with non-tuberculosis diseases. *European Respiratory Journal*. 2013;42(S57):1995.
13. Slogotskaya LV, Bogorodskaya E, Sentchichina O, Ivanova D, Nikitina G, et al. Effectiveness of tuberculosis detection using a skin test with allergen recombinant (CFP-10-ESAT-6) in children. *European Respiratory Journal*. 2015;46(S59):PA4524.
14. Shovkun L, Aksenova V, Kudlay D, Sarichev A. The role of immunological tests in the diagnosis of tuberculosis infection in children with juvenile idiopathic arthritis (JIA). *European Respiratory Journal*. 2018;52(S62):A2733.
15. Аксенова ВА, Барышникова ЛА, Долженко ЕН, Кудлай ДА. Актуальные вопросы массового обследования детского населения на туберкулез в современных условиях. *Доктор.Ру*. 2012;8(76):27–9. [Aksyonova VA, Baryshnikova LA, Dolzhenko EN, Kudlay DA. Tuberculosis screening in children today: important issues. *Doktor.Ru = Doctor.Ru*. 2012;8(76):27–9 (In Russ.)]
16. Слогоцкая ЛИ, Литвинов ВИ, Сельцовский ПП, Шустер АМ, Мартьянов ВА, Кудлай ДА и др. Применение кожной пробы с аллергеном туберкулезным рекомбинантным (Диаскинтест®) для диагностики туберкулезной инфекции у больных с ВИЧ-инфекцией. *Пульмонология*. 2011;1:60–4. [Slogotskaya LI, Litvinov VI, Seltsovsky PP, Shuster AM, Martyanov VA, Kudlay DA, et al. A skin test with recombinant allergen of Mycobacterium tuberculosis (Diaskintest®) to detect tuberculosis in HIV patients. *Pul'monologiya = Russian Pulmonology*. 2011;1:60–4 (In Russ.)] https://doi.org/10.18093/0869-0189-2011-0-1-60-64
17. Старшинова АА, Истомина ЕВ, Зинченко ЮС, Филатов МВ, Ланда СБ, Бурдаков ВС и др. Диагностическое значение специфических иммунных комплексов в определении активности туберкулезной инфекции. *Медицинская иммунология*. 2019;21(2):269–78. [Starshinova AA, Istomina EV, Zinchenko YuS, Filatov MV, Landa SB, Burdakov VS, et al. Diagnostic value of specific immune complexes in detection of active tuberculosis infection. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*. 2019;21(2):269–78 (In Russ.)] https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-2-269-278
18. Яблонский ПК. *Фтизиатрия. Национальные клинические рекомендации*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. [Yablonskiy PK. *Ftiziatriya. Phthisiology. National clinical guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2016 (In Russ.)]
19. Филатов МВ, Ланда СБ. Способы определения характеристики изотипического состава иммунных комплексов и их применение при терапии и диагностике. Патент Российской Федерации № 2634861; 2018. [Filatov MV, Landa SB. Methods for determining the characteristics of the isotypic composition of immune complexes and their use in therapy and diagnosis. Patent of the Russian Federation No. 2634861; 2018 (In Russ.)]
20. Ланда СБ, Филатов МВ, Арутюнян АВ, Варфоломеева ЕВ. Исследование образования мегамолекулярных комплексов в плазме крови методом лазерной корреляционной спектроскопии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2008;4:37–41. [Landa SB, Filatov MV, Arutyunyan AV, Varfolomeeva YeV. Study of plasma megamolecular complexation by laser correlation spectroscopy. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2008;4:37–41 (In Russ.)]
21. Кораблев ПВ, Ланда СБ, Семенова ЕВ, Филатов МВ. Динамическое светорассеяние — простой и чувствительный метод, позволяющий определять появление иммунных комплексов в биологических жидкостях. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2015;(2):53–8. [Korablev PV, Landa SB, Semenova EV, Filatov MV. Dynamic light scattering — a simple and sensitive method of determination immune complexes in biological liquids. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreperations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2015;(2):53–8 (In Russ.)]
22. Мамаев АН, Кудлай ДА. *Визуализация данных в презентациях, отчетах и исследованиях*. М.: Практическая медицина; 2011. [Mamaev AN, Kudlay DA. *Data visualization in presentations, reports and studies*. Moscow: Prakticheskaya medicina; 2011 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Старшинова Анна Андреевна, д-р мед. наук. *Anna A. Starshinova,* Dr. Sci. (Med.). **ORCID:** http://orcid.org/0000-0002-9023-6986
Зинченко Юлия Сергеевна. *Yulia S. Zinchenko.* **ORCID**: https://orcid.org/0000-0002-6273-4304
Истомина Евгения Викторовна. *Evgenia V. Istomina*
Басанцова Наталия Юрьевна. *Nataliya Yu. Basantsova.* **ORCID**: https://orcid.org/0000-0002-2957-410X
Филатов Михаил Валентинович, канд. биол. наук. *Mikhail V. Filatov,* Cand. Sci. (Biol.)
Беляева Екатерина Николаевна, канд. мед. наук. *Ekaterina N. Belyaeva,* Cand. Sci. (Med.)
Назаренко Михаил Михайлович. *Mikhail M. Nazarenko*
Ланда Сергей Борисович, канд. биол. наук. *Sergey B. Landa,* Cand. Sci. (Biol.)
Бурдаков Владимир Станиславович. *Vladimir S. Burdakov*
Павлова Мария Васильевна, д-р мед. наук, проф. *Maria V. Pavlova,* Dr. Sci. (Med.), Professor
Алексеев Дмитрий Юрьевич, канд. мед. наук. *Dmitry Yu. Alekseev,* Cand. Sci. (Med.)
Кудлай Дмитрий Анатольевич, д-р мед. наук. *Dmitry A. Kudlay,* Dr. Sci. (Med.) **ORCID**: http://orcid.org/0000-0003-1878-4467
Яблонский Петр Казимирович, д-р мед. наук, проф. *Piotr K. Yablonskiy,* Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID**: http://orcid.org/0000-0003-4385-9643

Поступила 24.07.2019
После доработки 02.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 24 July 2019
Revised 2 August 2019
Accepted 26 August 2019

УДК 615.076:57.083
https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-185-192
ШИФР 03.01.06
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
CC BY 4.0

Разработка и аттестация стандартного образца «Хлоркальциевый казеин»

С. М. Суханова*, Р. А. Волкова, Н. Е. Захарова, О. В. Фадейкина

*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 XIV издания тест-штамм *Clostridium novyi* 198 используется для определения ростовых свойств тиогликолевой среды при испытании иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП) по показателю «Стерильность». Для сохранения культуры *C. novyi* 198 в споровой форме рекомендована специальная жидкая среда, содержащая нерастворимый хлоркальциевый казеин (ХК). В настоящее время стандартный образец, необходимый для контроля партий ХК в составе питательной среды для поддержания *C. novyi* 198, на российском рынке отсутствует. **Цель работы:** разработка и аттестация первой серии отраслевого стандартного образца (ОСО) «Хлоркальциевый казеин», предназначенного для контроля партий ХК и жидкой питательной среды с его добавлением для поддержания *C. novyi* 198 в споровой форме. **Материалы и методы:** в качестве кандидата в ОСО использовали термоденатурированный ХК, полученный химическим путем из казеина технического. Оценку качества ОСО проводили по методикам, изложенным в МУК 4.2.2316-08. Получение культуры *C. novyi* 198 в споровом состоянии — подготовка, посев и инкубирование на среде, содержащей ОСО «Хлоркальциевый казеин», осуществляли в соответствии с разделом «Испытание на стерильность» МУК 4.2.2316-08. **Результаты:** для ОСО «Хлоркальциевый казеин» был определен перечень показателей качества: «Спорообразование» (аттестуемая характеристика), «Внешний вид», «Потеря в массе при высушивании», «Прозрачность среды». Проведена аттестация первой серии кандидата в ОСО «Хлоркальциевый казеин». Значение аттестуемой характеристики «Спорообразование» составило (32,6 ± 7,3) %, срок годности ОСО — 5 лет при хранении в сухом защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С. Разработан и утвержден комплект документации ОСО 42-28-444-2018. Жидкая среда с добавлением стандартизованного ХК (0,3 г/10 мл) обеспечивает сохранение биологических свойств рабочей культуры *C. novyi* 198 в течение не менее 12 месяцев. **Выводы:** по результатам аттестации ОСО «Хлоркальциевый казеин» соответствует предъявляемым требованиям и может быть использован в качестве образца сравнения для контроля новых партий ХК и оценки пригодности жидкой среды хранения с его добавлением. Применение ОСО «Хлоркальциевый казеин» позволяет стандартизовать и значительно упростить процедуру поддержания *C. novyi* 198 в стабильном состоянии, повысить эффективность и надежность оценки качества ИЛП по показателю «Стерильность», а также снизить затраты при использовании лиофильно высушенного штамма.
Ключевые слова: стерильность; ростовые свойства среды; термоденатурированный хлоркальциевый казеин; хранение штаммов; оценка качества; спорообразующие бактерии; отраслевой стандартный образец

Для цитирования: Суханова СМ, Волкова РА, Захарова НЕ, Фадейкина ОВ. Разработка и аттестация стандартного образца «Хлоркальциевый казеин». *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(3):185–192. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-185-192
***Контактное лицо:** Суханова Светлана Михайловна; SuhanovaSM@expmed.ru

Development and Certification of Calcium Chloride Casein Reference Standard

S. M. Sukhanova*, R. A. Volkova, N. E. Zakharova, O. V. Fadeikina

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

In accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th edition, *Clostridium novyi* 198 test strain is used to determine growth promoting properties of thioglycollate medium when testing sterility of immunobiological medicinal products. The preservation of *C. novyi* 198 as spores requires a special liquid medium containing insoluble calcium chloride casein (CChC). At present, there is no reference standard available on the Russian market for the quality control of CChC used as a component of the media for preservation of *C. novyi* 198. **The aim of the study** was to develop and certify the first batch of calcium chloride casein industry reference standard (IRS) for the quality control of CChC batches and liquid media containing CChC which is used to preserve *C. novyi* 198 as spores. **Materials and methods:** thermally denatured CChC which was chemically synthesized from industrial CChC was used as candidate material. The quality control was performed using the test procedures described in procedural guidelines MUK 4.2.2316-08. *C. novyi* 198 spores were obtained as described in the «Sterility testing» section of MUK 4.2.2316-08 (preparation, inoculation and incubation in the medium containing calcium chloride casein IRS). **Results:** a list of quality parameters was developed for calcium chloride casein IRS: «Spore formation» (certifiable parameter), «Appearance», «Loss on drying», «Clarity of medium». The first batch of the candidate calcium chloride casein IRS was certified. The value of the «Spore formation» certifiable parameter was found to be (32.6 ± 7.3) %, the IRS shelf life was 5 years when

stored in a dry place protected from light at a temperature of 15 to 25 °C. A documentation package for the IRS 42-28-444-2018 was prepared and approved. The liquid medium containing CChC reference material (0.3 g/10 mL) allows for preservation of the biological properties of the *C. novyi* 198 working culture for at least 12 months. **Conclusions:** the certification results demonstrate that the calcium chloride casein IRS meets the applicable requirements and can be used as reference material to control the quality of new CChC batches and to assess the suitability of liquid medium containing CChC for preservation purposes. The use of the calcium chloride casein IRS makes it possible to standardise and greatly simplify the procedure for preserving the stability of *C. novyi* 198, to increase the efficiency and reliability of immunobiologicals quality control in terms of Sterility, and to reduce costs when using a freeze-dried strain.
Key words: sterility; growth promoting properties of media; thermally denaturated calcium chloride casein; strain storage; quality control; spore-forming bacteria; industry reference standard

For citation: Sukhanova SM, Volkova RA, Zakharova NE, Fadeikina OV. Development and certification of calcium chloride casein reference standard. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(3):185–192. https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-3-185-192
***Corresponding author:** Svetlana M. Sukhanova; SuhanovaSM@expmed.ru

Отсутствие контаминации, вызванной посторонними микроорганизмами — одно из основных требований к качеству иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП), вводимых людям. Оценка пригодности питательных сред, используемых при проведении испытания на стерильность, с помощью чувствительных микроорганизмов является важнейшим элементом системы обеспечения качества, гарантирующим микробиологическую безопасность ИЛП. «Золотым стандартом» выявления контаминации в ИЛП служит специально разработанная схема, позволяющая использовать для испытания одну тиогликолевую среду. Согласно требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания[1] применение среды в качестве универсальной допускается при подтверждении наличия у нее ростовых свойств в отношении тест-штаммов аэробных и анаэробных бактерий, а также грибов. Ростовые свойства, обеспечивающие выявление анаэробных контаминантов, в этом случае оценивают с помощью требовательного к условиям культивирования тест-штамма *Clostridium novyi* 198 (*C. novyi* 198), позволяющего четко дифференцировать партии тиогликолевой среды по их чувствительности [1–3]. *Clostridium novyi* тип С — крупная полиморфная грамположительная спорообразующая подвижная палочка — облигатный анаэроб, растет на питательных средах очень скудно и в вегетативной форме нестабильна. Для достоверной оценки качества питательной среды необходимо использовать культуру в стабильном состоянии [4, 5]. По данным различных исследователей, для длительного сохранения микробных клеток могут применяться методы, обеспечивающие существенное торможение протекающих в клетках жизненных процессов, в частности глубокое замораживание, высушивание из замороженного (лиофилизация) или жидкого состояния и высушивание на твердых носителях [6–8].

В Государственной коллекции патогенных микроорганизмов III–IV групп патогенности (ГКПМ) ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России штамм *C. novyi* 198 хранится в лиофильно высушенном состоянии. Для поддержания восстановленного штамма необходимо через короткие промежутки времени (не позднее чем через 2 нед.) проводить пересевы на среду выращивания. Как показывает практика, при субкультивировании увеличивается риск контаминации, потери культуры и изменения ее биологических свойств. Проблема наличия достаточного количества жизнеспособной культуры со стабильными свойствами особенно актуальна при проведении мониторинга стерильности ИЛП, изготавливаемых в условиях асептических производств. Каждая партия питательной среды должна пройти оценку пригодности на культуре, полученной в результате не более пяти пассажей. Таким образом, микробная масса из одной ампулы лиофильно высушенного тест-штамма расходуется уже в течение 1–1,5 мес. После чего требуется повторное проведение процедур по восстановлению культуры и проверка ее чистоты. Кроме этого, необходимо учитывать частичную потерю микробной массы при процедуре высушивания, а также тот факт, что рост микроорганизма после лиофилизации нередко начинается после длительной лаг-фазы, что дополнительно увеличивает время подготовительных работ [6, 7].

Культура *C. novyi* 198 помимо лиофилизации способна без пересева в течение длительного времени сохраняться в споровом состоянии, являющемся естественной формой «самоконсервации», обеспечивающей большую выживаемость бактериального организма в неблагоприятных условиях [5]. В отечественных нормативных документах для этих целей рекомендована специальная жидкая среда, содержащая водонерастворимую форму хлоркальциевого казеина (ХК). ХК в составе среды способствует формированию спор и сохранению культуры микроорганизма в нелиофилизированном анабиотическом состоянии[2]. Хранение *C. novyi* 198 в среде такого состава позволяет продлить срок поддержания и расходования рабочей культуры, полученной из одной ампулы лиофильно высушенного тест-штамма. До 2010 г. ХК получали в качестве приложения к тест-штамму *C. novyi* 198 из коллекции микроорганизмов ГИСК им. Л. А. Тарасевича, при этом требования к его качеству не были регламентированы, а свойства не стандартизованы. В настоящее время стандартный образец этой формы казеина, необходимый для приготовления среды, пригодной для длительного хранения *C. novyi* 198, на российском рынке отсутствует, что определяет важность и значительную потребность в его разработке. Актуальность разработки отраслевого стандартного образца (ОСО) в качестве образца сравнения свойства определяется также необходимостью реализации современного подхода к проведению испытаний лекарственных средств, связанного с оценкой пригодности используемых материалов, а именно с проведением контроля новых синтезируемых партий ХК и оценкой качества среды хранения с его добавлением.

Цель работы — разработка и аттестация первой серии ОСО «Хлоркальциевый казеин», предназначенного для контроля новых партий хлоркальциевого казеина и жидкой питательной среды с его добавлением для хранения тест-штамма *C. novyi* 198 в споровой форме.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить перечень показателей качества ОСО «Хлоркальциевый казеин» и значения аттестуемых характеристик.

[1] Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.
[2] МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

2. Установить срок годности ОСО.

3. Провести оценку сохранения жизнеспособности и стабильности биологических свойств тест-штамма *C. novyi* 198 после хранения на среде, содержащей стандартизованный термоденатурированный хлоркальциевый казеин.

4. Разработать комплект документации на ОСО.

Материалы и методы

Материалы

В качестве кандидата в ОСО использовали термоденатурированный хлоркальциевый казеин, полученный химическим путем по методике [9] из казеина технического (ГОСТ 17626-81).

1. Набор реагентов для окраски по Граму (ТУ 9389-083-70423725-2007), ЗАО «ЭКОлаб».

2. Отраслевой стандартный образец мутности бактериальных взвесей (10 ME) (ОСО 42-28-85-2017), ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

3. Штамм *Clostridium novyi* 198, тип С, ГКПМ 300205 из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов III–IV групп патогенности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

4. Питательные среды лабораторного приготовления в соответствии с МУК 4.2.2316-08[3].

Методы

Получение культуры *C. novyi* 198 в споровом состоянии — подготовка, посев и инкубирование на среде, содержащей ОСО «Хлоркальциевый казеин», осуществляли в соответствии с разделом «Испытание на стерильность» МУК 4.2.2316-08[4].

Значение аттестуемой характеристики ОСО «Хлоркальциевый казеин» «Спорообразование» (количество сформировавшихся спор по отношению к общему числу (не менее 100) клеток (палочек и спор) (%) тест-штамма *C. novyi* 198) определяли в окрашенных по Граму мазках по методике, изложенной в МУК 4.2.2316-08[5]. Серию кандидата в ОСО считали прошедшей аттестацию по характеристике «Спорообразование» в том случае, если при хранении тест-штамма *C. novyi* 198 в среде, содержащей испытуемый образец (0,3 г/10 мл), формировалось не менее 15% спор. Отрицательным контролем служила суспензия тест-штамма *C. novyi* 198 при хранении его в среде, не содержащей ОСО «Хлоркальциевый казеин».

Оценку кандидата в ОСО по показателю «Внешний вид» проводили визуальным методом. «Прозрачность среды» оценивали визуально сравнением с не содержащей ХК средой для получения спор, приготовленной в тех же условиях. Показатель «Потеря в массе при высушивании» определяли по методике, изложенной в МУК 4.2.2316-08.

Срок годности ОСО устанавливали на основании испытания стабильности двух опытных партий ХК, изготовленных в 1980 и 2012 гг., по аттестованной характеристике и дополнительным показателям.

Идентификацию микроорганизмов 2-го пассажа культуры, полученного согласно методике подготовки штамма, описанной в МУК 4.2.2316-08, проводили на бактериологическом автоматическом анализаторе VITEK® 2 Compact 30 в соответствии с инструкцией производителя. Результаты обсчитывали с помощью программного обеспечения VITEK® 2 System, версия 07.01.

Расчет математических параметров (среднее значение, стандартное отклонение) выполняли с использованием программного обеспечения MS Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Для определения перечня показателей качества разрабатываемого ОСО «Хлоркальциевый казеин» проведен анализ требований МУК 4.2.2316-08 к среде для получения спор («споровая» среда, среда хранения). Установлено, что среда хранения, содержащая ХК (0,3–0,5 г/10 мл), должна обеспечивать формирование не менее 5% спор тест-штамма *C. novyi* 198 и сохранять культуру без значительного уменьшения их количества при длительном (не менее 1 года) хранении. По физико-химическим свойствам с учетом общих требований, предъявляемым к жидким питательным средам[6], добавляемый в среду ХК должен выдерживать кипячение (при регенерации среды) и стерилизацию (121 °С в течение 15 мин), а также быть водонерастворимым, сохраняя прозрачность среды в процессе хранения [10]. На основании проведенного анализа для ОСО «Хлоркальциевый казеин» определен перечень показателей качества, включающие «Внешний вид», «Потеря в массе при высушивании», «Прозрачность среды», а в качестве аттестуемой характеристики — «Спорообразование», и их предельные значения. Для выполнения поставленных задач согласно требованиям[7] разработаны «Техническое задание на разработку и аттестацию ОСО» и «Инструкция по изготовлению и контролю ОСО «Хлоркальциевый казеин». Установленные требования к качеству ОСО «Хлоркальциевый казеин» представлены в таблице 1.

В связи с отсутствием на российском рынке сухого препарата водонерастворимого ХК ранее нами был разработан способ его получения из казеина технического [9, 11]. В работе проведена аттестация серии ХК, полученной по данной методике, в качестве кандидата в ОСО «Хлоркальциевый казеин». Определение значения аттестуемой характеристики «Спорообразование» проводили в лаборатории бактериологических питательных сред и культур клеток в условиях промежуточной прецизионности (внутрилабораторной воспроизводимости). В испытаниях принимали участие два оператора. Каждый оператор проанализировал по 10 образцов бактериальной суспензии, отобранных из среды, содержащей кандидат в ОСО, и из среды, не содержащей кандидат в ОСО (отрицательный контроль). Во всех испытаниях при отсутствии в среде хранения ХК формировалось меньше 1% спор. Результаты представлены в таблице 2.

Аттестованное значение характеристики «Спорообразование» для кандидата в ОСО составило (32,6 ± 7,3)%, что соответствует критерию приемлемости, принятому при разработке требований, — не менее 15% и позволяет использовать его при оценке пригодности партий «споровой» среды, приготовленной для хранения штамма, а также в качестве образца сравнения для контроля новых партий ХК. На рисунке 1 представлен внешний вид окрашенных по Граму мазков суспензии культуры *C. novyi* 198, хранившейся на среде с добавлением (центральные и субтерминальные споры, вегетативные клетки) и без добавления ХК (вегетативные клетки).

Для анализа по дополнительным показателям качества «Внешний вид», «Прозрачность среды» и «Потеря в массе при высушивании» использовали по 20 образцов кандидата в ОСО. Показатель «Внешний вид» оценивали визуально. Все образцы серии кандидата в ОСО представляли собой хлопья светло-коричневого цвета. Определение показателя «Прозрачность среды» проводили визуально в составе среды для получения спор. Среду готовили

[3] МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.
[4] Там же.
[5] Там же.
[6] Там же.
[7] Общая фармакопейная статья 1.1.0007.18 Стандартные образцы. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Таблица 1. Требования к качеству ОСО «Хлоркальциевый казеин»
Table 1. Quality requirements for Calcium chloride casein IRS

Показатель Test parameter	Метод Test method	Норма Requirements
Спорообразование Spore formation	Микроскопия Microscopy	Не менее 15 % Not less than 15 %
Внешний вид Appearance	Визуальный Visual assessment	Хлопья от светло-желтого до светло-коричневого цвета Light yellow or light brown flakes
Потеря в массе при высушивании Loss on drying	Весовой Weight method	Не более 7,0 % Not more than 7.0 %
Прозрачность среды Clarity of medium	Визуальный Visual assessment	В составе среды хранения не должен вызывать помутнения As a component of the preservation medium the IRS should not produce turbidity

Таблица 2. Результаты определения значения аттестуемой характеристики «Спорообразование» кандидата в ОСО «Хлоркальциевый казеин»
Table 2. The results of determination of the «Spore formation» certifiable parameter for the candidate Calcium chloride casein IRS

Номер образца Sample number	Номер оператора Operator number	Спорообразование (*C*)[a], % Spore formation (*C*)[a], %
1	1	26,7
1	2	27,3
2	1	28,4
2	2	29,9
3	1	32,8
3	2	33,0
4	1	35,0
4	2	38,4
5	1	39,1
5	2	39,8
6	1	20,4
6	2	43,6
7	1	26,5
7	2	46,5
8	1	33,3
8	2	22,3
9	1	43,8
9	2	30,5
10	1	28,7
10	2	26,7
Среднее значение, $\bar{x}$ Mean value, $\bar{x}$		32,6
Стандартное отклонение, *S* Standard deviation, *S*		7,3

[a] Расчет спорообразования (*C*) проводили по формуле:

$$C = \left(\frac{n}{N}\right) \cdot 100\ \%, \quad (1)$$

где *n* — число спор в 3–5 полях зрения, *N* — общее число (не менее 100) клеток (палочек и спор) в 3–5 полях зрения.
[a] Spore formation (*C*) was calculated using the formula:

$$C = \left(\frac{n}{N}\right) \cdot 100\ \%, \quad (1)$$

where *n* — number of spores per 3–5 fields of vision, *N* — total number (at least 100) of cells (rods and spores) per 3–5 fields of vision.

согласно МУК 4.2.2316-08, разливали по 10 мл в пробирки, содержащие по 0,3 г ХК, и затем стерилизовали ее автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Все приготовленные образцы готовой среды были прозрачными. При соблюдении условий хранения при температуре от 2 до 8 °С в течение 6 месяцев прозрачность среды сохранялась. Образцы ХК в составе среды хранения не вызывали помутнения (рис. 2).

Анализ качества кандидата в ОСО по показателю «Потеря в массе при высушивании» проводили по методике, изложенной в МУК 4.2.2316-08. Среднее значение показателя «Потеря в массе при высушивании» для всех образцов составило (5,5 ± 0,1) %. Установление срока годности ОСО проводили на основании данных изучения стабильности серий ХК, изготовленных в 1980 и 2012 гг. — серии № 1 и № 2 соответственно. Условия их хранения соответствовали требованиям, предъявляемым к хранению большинства сухих питательных сред: в сухом защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С. Более 30 лет ХК (серия № 1) использовали для поддержания рабочей культуры тест-штамма *C. novyi* 198 в ГИСК им. Л. А. Тарасевича и на предприятиях — производителях медицинских иммунобиологических препаратов. Серию ХК № 2 применяли в текущей аналитической и экспертной работе лаборатории свыше 6 лет. Результаты испытаний серий № 1 и № 2 ХК по показателям «Спорообразование», «Внешний вид», «Потеря в массе при высуши-

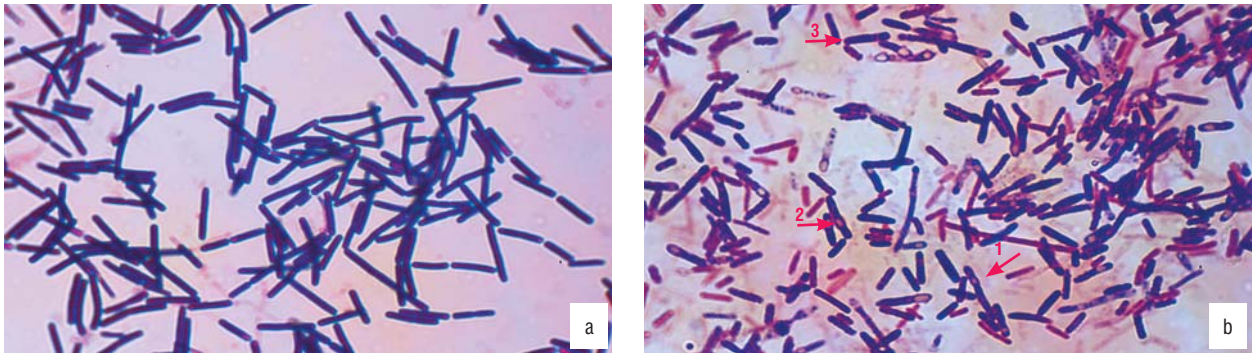


Рис. 1. *Clostridium novyi* 198: a — на среде хранения, не содержащей кандидат в ОСО, вегетативные клетки; b — на среде хранения, содержащей кандидат в ОСО «Хлоркальциевый казеин», центральные (*1*) и субтерминальные споры (*2*), вегетативные клетки (*3*). Увеличение ×1000 (окрашивание по Граму).
Fig. 1. *Clostridium novyi* 198 strain: a — in the preservation medium that does not contain the candidate IRS, vegetative cells; b — in the preservation medium containing the candidate Calcium chloride casein IRS, central (*1*) and subterminal spores (*2*), vegetative cells (*3*). Magnification 1000× (Gram staining).

вании» и «Прозрачность среды» с 2012 по 2018 г. представлены в таблице 3. На протяжении всего периода хранения обе серии ХК сохраняли внешний вид хлопьев светло-коричневого и светло-желтого цвета соответственно, а партии приготовленной среды хранения, содержащие образцы ХК, были прозрачными. Значение аттестованной характеристики «Спорообразование» для серии № 1 — (77,6 ± 4,2) %, для серии № 2 — (40,4 ± 4,5) %. Потеря в массе при высушивании составила в среднем (5,1 ± 2,7) и (4,1 ± 2,2) % соответственно.

Анализ результатов по применению и стабильности свойств свидетельствует, что ХК при хранении в течение не менее 6 лет в сухом защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С сохраняет свои характеристики в пределах установленных при разработке ОСО требований, что позволяет установить срок годности для ОСО «Хлоркальциевый казеин» 5 лет.

Изучение стабильности формирования спор проводили на культуре *C. novyi* 198, хранившейся на среде, содержащей ХК, в течение четырех циклов (пассажей) продолжительностью по три месяца. По окончании каждого цикла определяли значение характеристики «Спорообразование». Полученные значения данного показателя при хранении тест-штамма *C. novyi* 198 в споровой среде представлены в таблице 4.

При хранении в течение 15 месяцев тест-штамма *C. novyi* 198 на жидкой среде, содержащей ХК, формировалось от (28,3 ± 5,4) до (31,0 ± 3,6) % спор. Сохранение биохимических свойств подтверждали, используя второй пассаж культуры *C. novyi* 198, полученной в соответствии с методикой[8] на бактериологическом автоматическом анализаторе после каждого восстановления из спорового состояния. Восстановленная из спорового состояния культура штамма *Cl. novyi* 198 сохраняла свою жизнеспособность, культуральные и биохимические свойства. Аналогичным образом ХК серий № 1 и № 2 более 30 и 6 лет соответственно использовали в составе жидкой среды хранения для поддержания культуры штамма до IV пассажа и оценки ростовых свойств тиогликолевой среды.

Результаты анализа подтверждают, что жидкая среда, содержащая полученный по нашей методике ХК, обеспечивает формирование не менее 15 % эндоспор и сохраняет биологические свойства культуры тест-штамма *C. novyi* 198 в течение не менее 15 месяцев при условии пересева 1 раз в три месяца. На основании полученных данных, а также опыта применения ХК установлен срок хранения тест-штамма *C. novyi* 198 на среде, содержащей стандартизованный ХК, при температуре от 2 до 8 °С — 12 месяцев. Среда хранения, содержащая нерастворимую термоденатурированную форму ХК, обладает прозрачностью и позволяет формировать максимальное количество спор с последующим обратимым восстановлением свойств культуры *C. novyi* 198. Соблюдение такой схемы посева позво-

Рис. 2. Среда для получения спор: a — не содержащая кандидат в ОСО «Хлоркальциевый казеин»; b — содержащая кандидат в ОСО «Хлоркальциевый казеин»; c — штамм *Clostridium novyi* 198 на среде хранения, содержащей кандидат в ОСО «Хлоркальциевый казеин».
Fig. 2. Medium for obtaining spores: a — not containing the candidate Calcium chloride casein IRS; b — containing the candidate Calcium chloride casein IRS; c — *Clostridium novyi* 198 strain in the preservation medium containing the candidate Calcium chloride casein IRS.

[8] МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред.

Таблица 3. Результаты изучения стабильности показателей качества хлоркальциевого казеина серий № 1 и № 2 за период с 2012 по 2018 г.
Table 3. The results of stability testing of quality parameters of calcium chloride casein batches 1 and 2 for the period from 2012 to 2018

Срок хранения, мес. Storage period, months	Показатель Test parameter			
	Серия ХК № 1 (1980 г.)[a, b] CChC Batch No. 1 (1980)[a, b]		Серия ХК № 2 (2012 г.)[a, c] CChC Batch No. 2 (2012)[a, c]	
	Спорообразование, % Spore formation, %	Потеря в массе при высушивании, % Loss on drying, %	Спорообразование, % Spore formation, %	Потеря в массе при высушивании, % Loss on drying, %
0	78,8 ± 3,8	3,4 ± 1,3	39,4 ± 4,9	3,0 ± 1,4
3	76,4 ± 4,1	2,6 ± 1,3	42,6 ± 3,1	3,4 ± 1,0
6	81,1 ± 2,3	3,3 ± 0,9	38,7 ± 4,0	2,1 ± 0,9
9	77,7 ± 4,7	3,2 ± 1,5	39,7 ± 4,5	2,8 ± 1,3
12	78,7 ± 5,0	3,5 ± 1,1	41,3 ± 3,9	3,1 ± 1,6
18	77,7 ± 5,1	3,3 ± 1,6	41,2 ± 4,1	3,3 ± 1,4
24	77,9 ± 4,1	3,2 ± 1,4	37,5 ± 4,4	3,1 ± 1,3
36	76,7 ± 2,8	3,2 ± 1,6	39,7 ± 5,3	2,9 ± 1,3
48	75,5 ± 4,0	2,9 ± 1,1	40,6 ± 4,7	3,2 ± 1,6
60 (5 лет) 60 (5 years)	75,0 ± 3,5	2,9 ± 0,9	38,6 ± 3,9	3,3 ± 1,1
72 (6 лет) 72 (6 years)	74,8 ± 2,0	2,6 ± 0,9	42,4 ± 5,0	3,4 ± 0,7
Среднее значение Mean value	77,3 ± 4,1	3,1 ± 1,2	40,2 ± 4,5	3,0 ± 1,3

Примечание. При отсутствии в среде хранения хлоркальциевого казеина (ХК) (отрицательный контроль) формировалось менее 1 % спор.
[a] По показателю «Прозрачность среды» в составе среды хранения не вызывает помутнения.
[b] По показателю «Внешний вид» хлопья светло-коричневого цвета.
[c] По показателю «Внешний вид» хлопья светло-желтого цвета.
Note. The preservation medium which did not contain calcium chloride casein (CChC) (negative control) demonstrated less than 1 % of spores.
[a] When used as a component of the preservation medium did not produce turbidity in the «Clarity of medium» test.
[b] Produced light brown flakes when testing «Appearance».
[c] Produced light yellow flakes when testing «Appearance».

ляет создать рабочий банк стабильной культуры и использовать его при испытании ИЛП по показателю «Стерильность».

ОСО «Хлоркальциевый казеин» применяется в настоящее время в лаборатории для оценки пригодности партий «споровой» среды для хранения штамма, а также в качестве образца сравнения для контроля вновь синтезированных партий ХК. Для хранения штамма согласно требованиям[9] используются партии среды, позволяющие формировать не менее 5 % спор. Для вновь синтезируемых партий ХК критерий приемлемости по показателю «Спорообразование», принятый при разработке ОСО, составляет не менее 15 %. На сегодняшний день проведен контроль 43 партий тиогликолевой среды с использованием тест-штамма *C. novyi* 198, хранившегося в жидкой споровой среде. При экспертизе качества с помощью партий тиогликолевой среды с подтвержденными ростовыми свойствами в отношении данного тест-штамма с 2016 по 2019 гг. было выявлено 14 серий ИЛП, не соответствующих требованиям испытания на «Стерильность»[10].

На ОСО «Хлоркальциевый казеин» разработан комплект документации: паспорт, макеты этикеток первичной и вторичной упаковок и инструкция по применению ОСО.

Таким образом, ОСО «Хлоркальциевый казеин» может быть использован в качестве образца сравнения для аттестации вновь изготовленных партий ХК, а также для определения пригодности среды хранения с его добавлением. Использование стандартизованного ХК в составе среды позволяет сохранять тест-штамм *C. novyi* 198 в нелиофилизированном виде. Полученные для ОСО значения по аттестованной характеристике «Спорообразование» обеспечивают формирование не менее 15 % спор тест-штамма *C. novyi* 198, достаточное для поддержания рабочей культуры в течение не менее 12 месяцев. Применение ОСО «Хлоркальциевый казеин» позволяет значительно упростить процедуру поддержания *C. novyi* 198 в стабильном состоянии, повысить эффективность и надежность оценки качества ИЛП по показателю «Стерильность», а также снизить затраты при использовании лиофильно высушенного штамма.

Выводы

1. Определен перечень показателей качества ОСО «Хлоркальциевый казеин», предназначенного для контроля новых серий хлоркальциевого казеина и жидкой питательной среды с его добавлением для хранения тест-штамма *C. novyi* 198 в споровой форме: «Спорообразование» (аттестуемая характеристика), «Внешний вид», «Потеря в массе при высушивании» и «Прозрачность среды».

2. Проведена аттестация первой серии кандидата в ОСО «Хлоркальциевый казеин». Значение аттестованной характеристики составило (32,6 ± 7,3) %. Внешний вид представлял собой хлопья светло-коричневого цвета, «Потеря в массе при высушивании» составила (5,5 ± 0,1) %. Все приготовленные образцы готовой среды были прозрачными.

3. На основании данных по оценке стабильности свойств хлоркальциевого казеина установлен срок годности ОСО —

[9] Там же.
[10] Общая фармакопейная статья 1.2.4.0003.15 Стерильность. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Таблица 4. Результаты изучения стабильности показателя «Спорообразование» кандидата в ОСО при длительном хранении *C. novyi* 198 на жидкой среде
Table 4. The results of stability testing of the «Spore formation» property of the candidate IRS during long-term storage of *C. novyi* 198 in a liquid medium

№ п/п	Спорообразование, % Spore formation, %				
	I пассаж (3 мес.) Passage I (3 months)	II пассаж (6 мес.) Passage II (6 months)	III пассаж (9 мес.) Passage III (9 months)	IV пассаж (12 мес.) Passage IV (12 months)	IV пассаж (15 мес.) Passage IV (15 months)
1	32,8	27,3	35,7	24,0	39,3
2	32,1	32,1	30,0	26,8	35,3
3	29,1	34,9	21,1	21,6	21,2
4	31,9	31,8	17,2	31,3	20,5
5	29,2	28,6	31,3	27,8	30,0
6	29,4	26,7	35,0	20,1	20,1
7	31,2	33,1	29,0	27,7	33,4
8	29,7	35,0	37,9	29,6	41,2
9	30,1	37,1	31,7	30,7	38,1
10	33,6	30,4	24,7	27,0	25,8
11	26,2	35,9	34,3	22,5	41,4
12	31,5	31,1	28,0	40,9	21,3
13	32,5	35,9	26,2	37,1	26,3
14	30,0	30,6	25,9	37,2	20,8
15	33,5	28,7	24,2	34,5	24,3
16	28,1	27,7	26,0	36,8	35,5
17	29,0	27,8	22,2	32,4	33,4
18	33,1	25,9	32,4	22,0	36,9
19	30,1	33,7	22,7	33,0	28,1
20	31,5	26,4	30,0	27,2	22,3
$\bar{x}$	30,7	31,0	28,3	29,5	29,8
S	2,0	3,6	5,4	5,9	7,6

Примечание. $\bar{x}$ — среднее значение; S — стандартное отклонение.
Note. $\bar{x}$ — mean value; S — standard deviation.

5 лет при хранении в сухом защищенном от света месте при температуре от 15 до 25 °С.

4. Показано, что культура тест-штамма *C. novyi* 198 сохраняет жизнеспособность и стабильность биологических свойств на жидкой среде, содержащей стандартизованный хлоркальциевый казеин, в течение не менее 12 месяцев.

5. Разработан и утвержден комплект документации на ОСО 42-28-444-2018: паспорт, Инструкция по применению ОСО, макеты этикеток первичной и вторичной упаковки.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00154-19-00 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. 056-00154-19-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. AAAA-A18-118021590046-9).

Конфликт 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 YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standarts 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. Суханова СМ, Бердникова ЗЕ, Захарова НЕ, Меркулов ВА. Испытание на стерильность иммунобиологических лекарственных препаратов в России. История вопроса и современные требования. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(1):5–15. [Sukhanova SM, Berdnikova ZE, Zakharova NE, Merkulov VA. Sterility testing of immonobiological medicinal products in Russia. Historical background and current requirements. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(1):5–15 (In Russ.)] https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-1-5-15
3. Гавристова ИА, Андреева ЗМ, Бендас ЛГ. Способ контроля качества тиогликолевой среды. Авторское свидетельство № 990808; 1981. [Gavristova IA, Andreeva ZM, Bendas LG. Method of thioglycollate medium quality control. Inventor's certificate No. 990808; 1981 (In Russ.)]
4. Sasaki Y, Takikawa N, Kojima A, Norimatsu M, Suzuki S, Tamura Y. Phylogenetic positions of *Clostridium novyi* and

Clostridium haemolyticum based on 16S rDNA sequences. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2001;51(3):901–4. https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-901
5. Rainey FA, Hollen BJ, Small A. Clostridium. In: De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, et al., eds. *Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. Volume 3: The Firmicutes*. Springer; 2009. http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5
6. Похиленко ВД, Баранов АМ, Детушев КВ. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2009;4(12):99–121. [Pokhilenko VD, Baranov AM, Detushev KV. Methods for long-term storage of collection microbial cultures and tendencies of development. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Meditsinskie nauki = University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2009;4(12):99–121 (In Russ.)]
7. Morgan CA, Herman N, White PA, Vesey G. Preservation of micro-organisms by drying; a review. *J Microbiol Methods*. 2006;66(2):183–93. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2006.02.017
8. Волков ВЯ. К вопросу о физиологических и физико-химических механизмах стабильности микроорганизмов к замораживанию и высушиванию. *Микробиология*. 1994;63(1):5–16. [Volkov VYa. To the question of physiological and physico-chemical mechanisms of stability of microorganisms to freezing and drying. *Mikrobiologiya = Microbiology*. 1994;63(1):5–16 (In Russ.)]
9. Голубенко ИА, Суханова СМ, Захарова НЕ. Способ получения хлоркальциевого казеина. Патент Российской Федерации № 2528978; 2014. [Golubenko IA, Sukhanova SM, Zakharova NE. Method of production of casein calcium chloride. Patent of the Russian Federation No. 2528978; 2014 (In Russ.)]
10. Суханова СМ, Захарова НЕ. Питательные среды в практике микробиологических исследований. В кн.: *Руководство по медицинской микробиологии*. М.: Бином; 2008. С. 221–54. [Sukhanova SM, Zakharova NE. Nutrient media in the practice of microbiological research. In: *Guide to Medical Microbiology*. Moscow: Binom; 2008. P. 221–54 (In Russ.)]
11. Суханова СМ, Голубенко ИА, Захарова НЕ. Исследование различных форм казеина как спорообразующего компонента среды хранения для *Clostridium novyi*. В кн.: *Тезисы всероссийской научно-практической конференции «Вакцинология 2010. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней»*. М.; 2010. С. 108. [Sukhanova SM, Golubenko IA, Zakharova NE. Study of various forms of casein as a pore-forming component of the storage medium for *Clostridium novyi*. In: *Proceedings of the all-Russian scientific-practical conference «Vaccinology 2010. Improving the immunobiological means of prevention, diagnosis and treatment of infectious diseases»*. Moscow; 2010. P. 108 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Суханова Светлана Михайловна, канд. биол. наук. *Svetlana M. Sukhanova,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** http://orcid.org/0000-0001-6621-4384

Волкова Рауза Асхатовна, д-р биол. наук. *Rausa A. Volkova,* Dr. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0001-8698-2890

Захарова Наталия Евгеньевна, канд. биол. наук. *Natalia E. Zakharova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0003-0985-3694

Фадейкина Ольга Васильевна, канд. биол. наук. *Olga V. Fadeikina,* Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** https://orcid.org/0000-0002-8473-7442

Поступила 03.06.2019
После доработки 02.08.2019
Принята к публикации 26.08.2019

Received 3 June 2019
Revised 2 August 2019
Accepted 26 August 2019

К вопросу о вакцинопрофилактике кори в России

CC BY 4.0

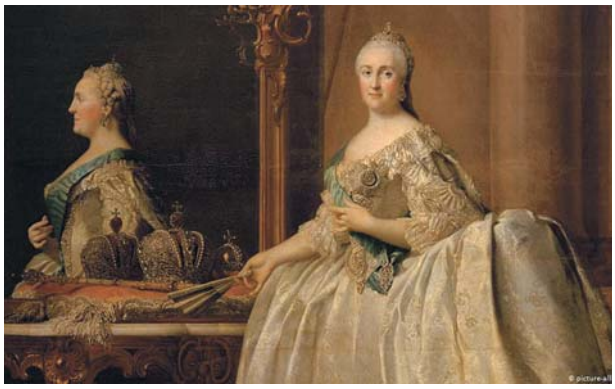
Some Aspects of Measles Vaccination in Russia

Иммунопрофилактика — единственное обоснованное научно средство, позволившее значительно снизить заболеваемость корью во всем мире, в том числе и в России. Эффективность вакцинопрофилактики кори ни у кого не вызывает сомнения. По оценкам ВОЗ, вакцинопрофилактика кори позволяет ежегодно предотвращать в мире от 2 до 3 млн случаев смерти. В странах американского региона «агрессивная стратегия по борьбе с корью» привела к элиминации кори. Но невозможность по социальным причинам поддерживать необходимый уровень охвата вакцинацией привела к «возрождению кори». В глобальном плане для достижения целей ВОЗ по элиминации кори в мире приоритетом является поддержание высокого уровня охвата вакцинацией в слаборазвитых странах, которые являются причиной тяжелого бремени кори в мире.

В России в результате реализации «Программы ликвидации кори на территории Российской Федерации к 2010 году»[1] с 2002 по 2010 год удалось достигнуть выраженного снижения заболеваемости. С 2007 по 2010 год заболеваемость корью не превышала 1,0 случая на 1 млн населения, не определялась также циркуляция эндемичного штамма вируса кори, что указывало на вступление России в стадию элиминации.

Однако неблагополучие по кори в Европе и Азии повлияло на рост заболеваемости корью в России в результате увеличения числа завозов инфекции и распространения инфекции среди непривитых в ряде субъектов Российской Федерации. В настоящее время заболеваемость корью в России превышает критерий элиминации. Кроме того, отмечена циркуляция эндемичных штаммов вируса кори на территории России и на сопредельных территориях.

Изменившаяся эпидемическая ситуация по кори во многих странах мира побудила ВОЗ пересмотреть сроки достижения элиминации инфекции и перенести сроки достижения элиминации кори в европейском регионе на 2020 год. Эксперты ВОЗ считают, что корь можно глобально ликвидировать, но для этого нужны определенные усилия по ликвидации инфекции в каждом регионе.



Императрица Екатерина II Алексеевна Великая (1762 г.)

Небезынтересны исторические сведения об отношении Екатерины II Великой к вакцинопрофилактике, а именно черной оспы в России. Считают, что самая первая прививка в Российской империи была произведена в 1768 году Екатерине Великой. Она и ее последователи издавали различного рода указы, призывавшие к вакцинации против оспы и грозившие большими штрафами, а иногда и смертной казнью за нарушение распоряжения.

Теперь вопрос о сертификации Европейского региона как территории, свободной от эндемичной кори, может быть рассмотрен только при условии достижения во всех странах региона критериев элиминации в течение трех лет. Только в этом случае задача по элиминации кори в Европе может быть признана решенной. Достигнуть этого возможно путем увеличения и поддержания охвата вакцинацией декретированных возрастов и контингентов населения до 95–98 % уровня.

Существующие на мировом рынке коревые вакцины безопасны, эффективны и взаимозаменяемы.

Ряд аттенуированных штаммов вируса кори: Шварц, Эдмонстон-Загреб, AIK-C, Moraten, из которых изготовлены живые вакцины, получены из штамма Эдмонстон, который Эндерс и Пиблс выделили в 1954 году. Аттенуацию штамма Эдмонстон проводили путем последовательных пассажей на культуре клеток почек человека (24 пассажа) и на культуре клеток амниона человека (28 пассажей). Более аттенуированный штамм Шварц был получен путем дополнительных 85 пассажей на культуре клеток куриных эмбрионов. Вакцины, приготовленные на основе штамма Эдмонстон, применяются до настоящего времени, в том числе пользующиеся популярностью в России комбинированные препараты М–М-Р-II® и Приорикс®.

Отечественная живая коревая вакцина, а также паротитно-коревая вакцина изготовлены на основе отечественного штамма Ленинград-16. Несмотря на то что все названные препараты, применяющиеся для профилактики кори в России, эффективны и слабореактогенны, отечественная вакцина против кори имеет ряд отличий и преимуществ перед зарубежными аналогами.

Отечественный штамм вируса кори был выделен Л. Ю. Тарос, работавшей в Ленинградском НИИЭМ им. Л. Пастера под руководством академика Ан. А. Смородинцева, в 1960 году на культуре клеток почек морских свинок (ПМС) и назван Ленинград-16. Штамм прошел 21 пассаж на указанной культуре клеток и приобрел признаки аттенуированного вакцинного штамма. Вакцина из этого штамма Приказом Министра здравоохранения СССР № 473 от 14 июня 1967 года была внедрена в практику и с успехом применяется в настоящее время.

Оригинальная технология крупносерийного производства живой коревой вакцины была разработана Ленинградским НИИЭМ им. Л. Пастера и Московским НИИ вирусных препаратов. В течение ряда лет в Московском НИИ вирусных препаратов под руководством О. Г. Анджапаридзе проводились работы по совершенствованию качества вакцины. В этой связи необходимо отметить сотрудников института Е. М. Доссер, В. М. Дорофеева, С. В. Лохову, Т. М. Соколову, Н. М. Гордиенко, проводивших исследования по подбору оптимального производственного субстрата для репродукции вируса и испытания экспериментальных серий вакцины. С этой целью были использованы, кроме культуры клеток почек морских свинок,

[1] Приказ Минздрава России от 19.08.2002 № 270 «Об утверждении программы ликвидации кори на территории Российской Федерации к 2010 году».

Коллектив сотрудников Ленинградского НИИЭМ им. Л. Пастера (начало 1980-х годов)

В центре с цветами — академик Ан. А. Смородинцев, лауреат Сталинской премии 1 степени (1941), Ленинской премии (1963), почетный член Нью-Йоркской академии наук, научных обществ микробиологии Венгрии, Румынии, Чехословакии, Англии, Аргентины, США, награжден двумя орденами Ленина, орденом Дружбы народов, орденом «Знак Почета», медалями; правее — Л. Ю. Тарос, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории детских вирусных инфекций; на заднем плане — Ал. А. Смородинцев, профессор, руководитель лаборатории детских вирусных инфекций. Фотография предоставлена автором.

диплоидные клетки человека Wi-38 и фибробласты эмбрионов японских перепелов (ФЭП). Штамм Ленинград-16 был адаптирован к ФЭП путем двух дополнительных пассажей. Было показано, что после пассирования штамма на культуре клеток ФЭП снизилась реактогенность вакцины и не изменилась ее антигенная активность. Производство живой коревой вакцины с использованием в качестве субстрата фибробластов японских перепелов начато в 1970 году.

В настоящее время коммерческая живая коревая вакцина имеет пассажную характеристику (21 ПМС + 6 ФЭП), не меняющуюся с начала производства вакцины на новом клеточном субстрате. Следует отдать должное профессионализму и высокой ответственности коллектива сотрудников Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Л. Пастера, работавших под руководством Т. В. Перадзе, сумевших в течение десятилетий сохранить вакцинный штамм Ленинград-16 и предоставить его в Московский НИИ вирусных препаратов для изготовления новой серии производственного штамма после исчерпания его запаса на производстве.

Клеточная система, используемая в качестве производственного субстрата для накопления вируса, определяет важнейшее качество вакцины — безопасность. Важно, что вышеназванные зарубежные аналоги, лицензированные в России, производятся на культуре фибробластов куриных эмбрионов (ФЭК). Использование для производства отечественной коревой вакцины культуры ФЭП увеличивает профиль безопасности вакцины, так как устраняет риск возникновения анафилактических и анафилактоидных реакций гиперчувствительности немедленного типа на куриный белок.

Еще один важный момент отличает отечественную вакцину, изготовленную на культуре ФЭП. В 1999 году в докладе Комитета экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов было отмечено, что в живых вирусных вакцинах, приготовленных на клетках куриных эмбрионов, обнаружена реверстранскриптазная активность, обусловленная присутствием эндогенных птичьих ретровирусных последовательностей в этих клетках. Таким образом, можно с уверенностью утверждать, что отечественная живая коревая вакцина, производящаяся на клетках перепелиных эмбрионов, имеет гарантированный запас безопасности.

В заключение необходимо отметить, что отечественная живая коревая вакцина в конце 1980-х годов была направлена в ВОЗ для оценки качества ее по ряду лабораторных показателей и была признана препаратом, соответствующим мировым стандартам. В те же годы отечественная коревая вакцина экспортировалась во многие страны мира: Аргентину, Болгарию, Венгрию, Индию, Кубу, Польшу, Монголию, Румынию, Турцию и Перу, где успешно применялась для профилактики кори. Рекламаций на качество вакцины не поступало.

По инициативе ГИСК им. Л. А. Тарасевича в 1999 году было открыто альтернативное производство живой коревой вакцины в ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Вакцина на этом предприятии производится по той же технологии из того же вакцинного штамма и на том же производственном субстрате, что и в Москве. Благодаря профессиональной работе сотрудников Центра под руководством Л. С. Сандахчиева, А. А. Царевой, Е. А. Нечаевой препарат, производящийся в Новосибирской области, по качеству также соответствует требованиям ВОЗ.

Хочется надеяться, что эти сведения об особенностях отечественного вакцинного штамма вируса кори и производства вакцины в нашей стране дадут работникам здравоохранения новые аргументы для доказательства безопасности вакцинопрофилактики кори с помощью отечественной вакцины.

Главный эксперт лаборатории вирусных вакцин
Испытательного центра экспертизы качества МИБП
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России,
кандидат биологических наук Т. Н. Юнасова

Иван Алексеевич Дятлов (к 60-летию со дня рождения)

Ivan Alekseevich Dyatlov (on the 60th Anniversary)

18 августа 2019 года исполнилось 60 лет со дня рождения доктора медицинских наук, профессора, академика РАН, директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (п. Оболенск, Московская область) Ивана Алексеевича Дятлова.

Иван Алексеевич родился в 1959 году в Москве. В 1982 году окончил лечебный факультет Ставропольского государственного медицинского института по специальности «Лечебное дело». С 1982 по 2005 год И. А. Дятлов работал в Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов), где прошел путь от младшего научного сотрудника до заместителя директора по научной и производственной работе. В 1984 году И. А. Дятлов окончил курсы специализации врачей по особо опасным инфекциям, имеет сертификаты специалиста по специальностям «Бактериология», «Эпидемиология», «Аллергология и иммунология». Иван Алексеевич имеет опыт практической работы в специализированных противоэпидемических бригадах (СПЭБ), в частности участвовал в ликвидации последствий землетрясения в Армении в 1988–1989 годах, работая в качестве эпидемиолога и начальника СПЭБ.

С 2005 года И. А. Дятлов работает в должности директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора.

В 1986 году И. А. Дятлов успешно защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а в 1992 году — диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук. В 2001 году ему присвоено ученое звание профессора по специальности «Микробиология». С 2011 года И. А. Дятлов — член-корреспондент РАМН, с 2014 года — член-корреспондент РАН, а с 2016 года — академик РАН.

И. А. Дятлов — ведущий специалист в области медицинской микробиологии особо опасных и социально значимых инфекций. Под руководством И. А. Дятлова впервые в России была воссоздана масштабная технология производства лечебно-профилактического иммуноглобулина против бешенства. Создана технология метагеномного анализа биологических образцов на наличие новых и множественных опасных патогенов, используемая в том числе для решения задач молекулярной эпидемиологии. И. А. Дятловым разработано и внедрено более 30 диагностических препаратов (иммунохроматографические тесты), ряд мультиплексных ПЦР тест-систем, созданы образцы тестов на основе иммуно-ПЦР и аптамеров для выявления возбудителей. Под руководством И. А. Дятлова разработаны подходы к созданию новых вакцин против чумы, туляремии и патогенных эшерихий.

И. А. Дятлов является экспертом по вопросам биологической безопасности и коллекционной деятельности при Совете экспертов координационно-аналитического центра, членом Межведомственного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории России, советов Национального проекта «Наука» и Федеральной научно-технической программы по развитию генетических технологий, председателем диссертационного совета при ФБУН «ГНЦ ПМБ», членом диссертационного совета при ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, экспертом ВАК, экспертом Российского научного фонда, членом Экспертного совета по новым лекарственным средствам, членом межведомственной группы по ме-

дицинским иммунобиологическим препаратам при Минпромторге России. И. А. Дятлов — член правления Национального научного общества инфекционистов, заместитель председателя Всероссийского научного общества микробиологов, эпидемиологов, иммунологов, паразитологов, президент Национального научного общества бактериологов, главный редактор журнала «Бактериология», член редакционного совета журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

И. А. Дятловым лично и в соавторстве опубликовано 580 научных работ, среди которых 15 монографий и 41 патент на изобретение Российской Федерации. Им разработано 30 нормативно-методических документов федерального уровня. И. А. Дятлов — декан факультета биологической безопасности Пущинского государственного естественно-научного института. Иван Алексеевич подготовил 7 докторов и 13 кандидатов наук.

Высокое профессиональное мастерство, активная работа и значительный вклад И. А. Дятлова в развитие государственной санитарно-эпидемиологической службы и обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения и защиты прав потребителей отмечены медалями «90 лет Госсанэпидслужбе России» Роспотребнадзора, «95 лет Госсанэпидслужбе России» Роспотребнадзора, благодарностями руководителя Администрации Президента Российской Федерации, руководителя Роспотребнадзора, Министерства образования и науки Российской Федерации, а также многочисленными ведомственными медалями Министерства по чрезвычайным ситуациям Российской Федерации, Министерства внутренних дел Российской Федерации, Министерства обороны Российской Федерации.

Поздравляем Ивана Алексеевича с юбилеем! Желаем здоровья, креативных идей, оптимизма и благополучия!

Виктор Евгеньевич Волчков (к 60-летию со дня рождения)

Viktor Evgenievich Volchkov (on the 60th Anniversary)

26 сентября 2019 года исполнилось 60 лет со дня рождения доктора медицинских наук, профессора, заведующего отделом молекулярных основ вирусной патогенности Лионского университета имени Клода Бернара (Claude Bernard Lyon 1 University) Виктора Евгеньевича Волчкова.

В. Е. Волчков родился в 1959 году в г. Новосибирске. После окончания в 1983 году Новосибирского государственного университета начал свою профессиональную деятельность в Государственном научном центре вирусологии и биотехнологии «Вектор» (пос. Кольцово, Новосибирская область), где работал до 1993 года. Десять плодотворных лет В. Е. Волчков изучал молекулярно-биологические свойства вирусов Венесуэльского энцефаломиелита лошадей, Восточного энцефаломиелита лошадей и Западного энцефаломиелита лошадей, а также геморрагических лихорадок Марбург, Эбола и Мачупо. Особо успешными были его исследования структуры вируса Эбола — им впервые в мире получена полногеномная последовательность штамма Заир.

В 1993 году В. Е. Волчков продолжил свою научную карьеру в Институте вирусологии университета г. Марбург. За шесть лет им были получены новые данные о структурно-функциональных свойствах вирусов Эбола и Марбург, вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Совокупность его работ заслуженно принесла ему репутацию мирового эксперта в области филовирусов. Для оказания методической помощи Виктор Евгеньевич многократно выезжал в Институт Пастера Республики Сенегал.

С 1999 года В. Е. Волчков работает во Франции заведующим отделом молекулярных основ вирусной патогенности Лионского университета имени Клода Бернара (Лион, Франция). Преподавательскую деятельность он совмещал с исследовательской работой в Merieux Fonudation — в лаборатории BSL-4 Международного центра исследований инфекционных заболеваний, Национальном институте здоровья и медицинских исследований (INSERM), изучая фило-, арена-, бунья- и парамиксовирусы.

Виктор Евгеньевич принимал активное участие в работе международной группы ученых, занимавшихся разработкой вакцины для профилактики и лечения лихорадки Эбола.

Под руководством В. Е. Волчкова успешно защищены семь диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. В. Е. Волчков лично и в соавторстве опубликовал более 160 научных статей в отечественных и зарубежных журналах, является автором глав в книгах, опубликованных за рубежом, посвященных филовирусам и геморрагическим лихорадкам.

Искренне поздравляем Виктора Евгеньевича с юбилеем! Желаем здоровья, удачи, достижения поставленных целей и благополучия!

4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019»

4th Russian Conference on Medicinal Chemistry with International Participants «MedChem Russia 2019»

Фотография предоставлена ФГБУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН

В период с 10 по 14 июня 2019 года в г. Екатеринбурге на базе Уральского федерального университета им. первого Президента России Б.Н. Ельцина, Института физики металлов им. М.Н. Михеева УрО РАН, Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН состоялась 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019».

Тематика конференции включала основные направления развития химической, фармацевтической и медицинской науки, технологии, промышленности, химического образования и взаимодействия бизнеса с наукой. В рамках конференции обсуждались проблемы органического синтеза и создания новых соединений с заданными свойствами, обладающих потенциальной биологической активностью; рассматривались механизмы действия биологически активных соединений на молекулярном уровне, вопросы взаимосвязи структуры и биологической активности, а также проблемы борьбы с социально значимыми заболеваниями.

Работа конференции «МедХим-Россия 2019» была направлена на стимулирование развития новейших технологий, инноваций и вовлечение частного и публичного сектора в выполнение программ национального развития и укрепление связей российских и зарубежных научных, образовательных и медицинских учреждений.

В работе конференции приняли участие около 300 делегатов из 7 стран мира, в том числе 9 действительных членов и 10 членов-корреспондентов РАН, ученые и специалисты ведущих научных центров, вузов, промышленных предприятий и объединений, представители законодательной и исполнительной власти.

Формат конференции включал пленарные и секционные заседания, сателлитные симпозиумы, XVI Всероссийскую научно-практическую конференцию с международным участием им. А.Ю. Барышникова «Новые отечественные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы», а также стендовую сессию, тематически охватывая

все основные направления фундаментальной и прикладной медицинской химии.

В ходе работы пленарной сессии было представлено более 20 докладов по основным направлениям медицинской химии, в том числе доклады ведущих зарубежных исследователей и членов РАН: «Применение йодных реагентов в лечебно значимых синтезах» (В. В. Жданкин, США); «Medicinal chemistry optimizations in deep water: SAP studies on mGLuR5 allosteric modulators» (Gyorgy Keseru, Венгрия); «Новые методологии в медицинской химии» (акад. РАН В. Н. Чарушин); «Возможно ли создание синтетических опиоидных анальгетиков без наркогенного потенциала?» (акад. РАН А. А. Спасов); «Фармакологические подходы в регенеративной медицине» (акад. РАН В. А. Черешнев); «Разработка ИФА-диагностикумов для обнаружения грибковых и бактериальных полисахаридных маркеров опасных инфекционных заболеваний» (член-корр. РАН Н. Э. Нифантьев); «Современные тенденции в создании препаратов для лечения болезни Альцгеймера» (член-корр. РАН С. О. Бачурин); «Комплексы переходных металлов на основе веществ растительного происхождения: перспективы применения в медицине» (член-корр. РАН А. В. Кучин); «Дипептидные миметики нейротрофинов: дизайн и фармакологические свойства» (член-корр. РАН Т. А. Гудашева); «Создание новых противовоспалительных средств на основе фторсодержащих (гет)арилпроизводных» (член-корр. РАН В. И. Салоутин).

Мероприятия конференции «МедХим-Россия 2019» проходили на пяти площадках и были разбиты на несколько научных секций:

- «Новые синтетические и технологические подходы в медицинской химии»;
- «Направленный поиск препаратов для лечения и предупреждения туберкулеза и других социально значимых инфекционных заболеваний: фундаментальные и практические аспекты»;
- «Поиск лекарственных препаратов на основе природных соединений и возобновляемых биоресурсов»;
- «Научно-методические основы поиска и создания новых лекарственных средств»;
- «Новые материалы для медицины. Нанокомпозиты, системы доставки лекарств»;
- «Компьютерный дизайн лекарственных веществ. Новые технологии в медицине и биофармацевтике».

Работа секции «Направленный поиск препаратов для лечения и предупреждения туберкулеза и других социально значимых инфекционных заболеваний: фундаментальные и практические аспекты» была посвящена вопросам поиска препаратов, направленных на борьбу с такими социально значимыми проблемами, как туберкулез, вирусные заболевания. Особое внимание привлекли доклады «Инновационные технологии в создании противотуберкулезных лекарств» (В. Н. Даниленко), «Особенности изучения антибиотикорезистентности возбудителей туберкулеза в клинической практике и при проведении доклинических исследований» (Д. В. Вахрушева).

Заседание секции «Поиск лекарственных препаратов на основе природных соединений и возобновляемых биоресурсов» открыл В. Э. Семенов, доклад которого был посвящен синтезу и биологической активности первых триазоловых аналогов пиримидиновых нуклеозидов. На секции были рассмотрены вопросы синтеза и биологической активности S-, O-, N- и F-содержащих терпеноидов (С. А. Рубцова). С докладом о новых ингибиторах фермента репарации ДНК TDP1, способных повышать эффективность темозоломида в отношении мультиформной глиобластомы, выступила О. И. Яровая.

В ходе работы секции «Научно-методические основы поиска и создания новых лекарственных средств» продемонстрированы достижения мировой и отечественной химической и фармацевтической науки в таких областях, как новые методы химического синтеза, биомолекулярная химия, биотехнология и др. Доклад И. А. Дьяченко был посвящен вопросу применения GLP-технологии при проведении доклинических исследований лекарственных средств. Об основных направлениях поиска антитромбогенных средств сообщила А. Ф. Кучерявенко. И. М. Суханов выступил с докладом «Рецепторы, ассоциированные со следовыми аминами, 1-го подтипа и их роль в лечении нейропсихических расстройств». Большой интерес вызвали доклады «Экспериментальные предпосылки внедрения лекарств, влияющих посредством P2-рецепторов» (А. У. Зиганшин), «Поиск и разработка препаратов для коррекции эндотелиальной дисфункции» (И. Н. Тюренков).

В работе секции «Новые материалы для медицины. Нанокомпозиты, системы доставки лекарств» освещались вопросы исследования взаимодействия липосом, нагруженных липофильным пролекарством метотрексата, с основными фагоцитами крови (Н. Р. Онищенко), вопросы разработки биодеградируемого протеза для реконструкции слезного канала (В. А. Кузнецов), использования полиоксомолибдатов кеплератного типа в биомедицине (А. А. Остроушко). Доклад профессора M. Hawash (Национальный университет Палестины) был посвящен основным аспектам создания противораковых лекарственных средств. Большой интерес вызвал доклад А. М. Демина, посвященный синтезу наноматериалов, основанных на магнетите двухвалентного железа и пептидов pHLIP.

На секции «Компьютерный дизайн лекарственных веществ. Новые технологии в медицине и биофармацевтике» с докладами выступили представители научных организаций Екатеринбурга, Москвы, Санкт-Петербурга, Самары, Уфы, Волгограда. Большой интерес слушателей был проявлен к докладам «Обоснование механизма противовирусного действия аналогов камфецина методами молекулярного моделирования» (С. С. Борисевич) и «Высокопроизводительный анализ живых клеток на базе микроскопии Никон» (Т. Смирнова). Среди докладов молодых ученых была отмечена работа М. А. Гуреева на тему «Динамика и лиганд-индуцированные изменения структуры N-концевого домена белка-онкогена Mdm2».

Фотография предоставлена ФГБУН Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН

В рамках конференции «МедХим-Россия 2019» была организована XVI Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием им. А.Ю. Барышникова «Новые отечественные противоопухолевые препараты и медицинские технологии: проблемы, достижения, перспективы». Целью конференции было определение актуальных подходов к конструированию и синтезу противоопухолевых лекарственных препаратов, разработке научных основ медицинских технологий, а также развитие сотрудничества между научными коллективами различных организаций, поддержка молодых ученых и их исследований.

Программа конференции включала доклады, в которых освещались современные подходы к разработке лекарственных средств для лечения злокачественных новообразований. Были также рассмотрены вопросы применения природных и синтетических металлокомплексов для диагностических и терапевтических целей в онкологии; представлены методы иммунотерапии и биотерапии опухолей, результаты изучения, идентификации и синтеза продуктов метаболизма противоопухолевых лекарств и родственных соединений; освещены проблемы проведения скрининга и различного рода испытаний новых противоопухолевых лекарственных соединений.

В ходе проведения конференции «МедХим-Россия 2019» была организована выставка научно-практических журналов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: «Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения», «БИОпрепараты: профилактика, диагностика, лечение», «Безопасность и риск фармакотерапии». Тематика научных статей, опубликованных в журналах, привлекла внимание как начинающих специалистов-синтетиков лекарственных средств, так и ученых, имеющих значительный практический опыт в данной области. Участники конференции проявили интерес к возможности опубликовать свои материалы в журналах ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, а также нашли на их страницах актуальную информацию для дальнейшей работы.

Подробная информация о конференции «МедХим-Россия 2019» представлена на сайте http://medchem2019.uran.ru.

Тезисы докладов доступны по ссылке http://medchem2019.uran.ru/Medchem2019/MedChem_abstracts.pdf

Председатель конференции «МедХим-Россия 2019»
академик РАН В.Н. Чарушин,
Ученый секретарь конференции
«МедХим-Россия 2019»
кандидат химических наук О.А. Кузнецова

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