

И.С.Барулина<sup>1</sup>, Л.В.Саяпина<sup>1</sup>, Н.П.Байдалова<sup>2</sup>, И.И.Хорева<sup>2</sup>, И.С.Мещерякова<sup>3</sup>,  
М.И.Кормилицына<sup>3</sup>, С.А.Коровкин<sup>4</sup>

## ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЯ «СПЕЦИФИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ» ЖИВОЙ ТУЛЯРЕМИЙНОЙ ВАКЦИНЫ

<sup>1</sup>ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича, Москва; <sup>2</sup>Филиал ФГУП НПО «Микроген» «Омское предприятие по производству бакпрепаратов»; <sup>3</sup>ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, Москва; <sup>4</sup>ФГУП НПО «Микроген», Москва

Проведен анализ результатов контроля специфической безопасности вакцины туляреминой живой сухой, применяемой для профилактики туляремии. В период с 1997 по 2006 год выявлена нестабильность данного показателя. Специфическая безопасность вакцины является одним из основных показателей качества вакцины и несоответствие его при контроле требованиям нормативной документации (НД) является одной из основных причин брака. Предложено внести изменения в НД и использовать при контроле стандартных животных, строго соблюдая условия их содержания.

*Ключевые слова:* профилактика туляремии, оценка качества вакцин, туляреминая вакцина, специфическая безопасность.

Актуальность профилактики туляремии определяется наличием природных очагов этой инфекции, распространенных практически во всех регионах России. В последние годы отмечается тенденция к увеличению числа спорадических или небольших групповых случаев заболеваний. Это, прежде всего, связано с сокращением объемов профилактических и противоэпидемических мероприятий. Эффективность вакцинации населения против туляремии определяют данные по ее заболеваемости. [4–6]. Для иммунопрофилактики туляремии в нашей стране применяют живую туляремию вакцину, которую производит филиал ФГУП НПО «Микроген» «Омское предприятие по производству бакпрепаратов».

Общие требования к качеству вакцин, основанные на рекомендациях ВОЗ, касаются, прежде всего, их безопасности и специфической активности [3]. В соответствии с действующей нормативной документацией специфическая безопасность (безвредность) туляреминой вакцины определяется в опытах на морских свинках. Безопасными считаются те серии препарата, введение которых подкожно во внутреннюю поверхность бедра в дозе  $5 \cdot 10^9$  м.к. в 1,0 мл не вызывает гибели животных в течение 15 сут. В месте инъекции возможен некроз тканей (кожи и подкожной клетчатки). Это согласуется с литературными данными, которые были использованы при разработке критериев оценки качества туляреминой вакцины [2, 5, 7].

По раннее действующей нормативной документации [1] специфическую безопасность оценивали на 3 морских свинках массой (400±25) г при подкожном введении им  $5 \cdot 10^9$  м.к./мл вакцины. На протяжении ряда лет (1987–1995 гг.) туляреминая вакцина соответствовала требованиям нормативной документации. Учитывая накопленный опыт, при очередной переработке нормативной документации было рекомендовано проводить контроль специфической вак-

цины на одной морской свинке массой (400±25) г [8]. По такой же методике, изложенной в Фармакопейной статье предприятия, оценивается специфическая безопасность вакцины в настоящее время [9].

Однако введение морской свинке указанной выше дозы вакцины в некоторых случаях приводило к ее гибели в различные сроки наблюдения (от 6 до 15 сут). Серии препарата, которые не соответствовали требованиям нормативной документации по данному показателю, были забракованы. В 1999–2000 гг. в связи с недостаточным количеством морских свинок вакцина выпускалась по данным контроля специфической безопасности только ОБТК предприятия-изготовителя.

Для решения вопроса оценки специфической безопасности нами проведен анализ данных, полученных при контроле туляреминых вакцин в лаборатории препаратов против чумы и других ООИ ГИСК им. Л.А.Тарасевича за период 1997–2006 гг. (табл. 1). При этом учитывалась масса животных, а также сезонность проведения опыта. За указанный период времени 3 серии вакцины были забракованы, как не соответствующие нормативным требованиям, предъявляемым к препарату по специфической безопасности. В 1998 г. контроль 1 серии повторяли 2 раза на удвоенном количестве животных, так как при оценке показателя в опытах масса животных была меньше, чем указано в нормативной документации. При введении препарата животным массой 408 и 510 г они выжили. В 2001 и 2004 гг. по той же причине дважды повторяли контроль двух серий вакцины. В 2002 г. 7 серий вакцины были выпущены по данным ОБТК предприятия-изготовителя, так как животные, на которых проводили контроль, погибли от скрытой инфекции – была выделена культура *Proteus vulgaris*.

Для выяснения причин гибели павших животных вскрывали, проводили бактериологическое исследование лимфатических узлов, селезенки, печени, сердца с использованием питательной среды

Результаты контроля специфической безопасности вакцины туляремийной живой

Год, месяц проведения контроля	Кол-во отконтролированных серий вакцины	Масса выживших животных, г	Масса павших животных, г	Результат контроля
1997, март – апрель	6	375, 380, 410, 415, 420, 500		Все серии соответствовали требованиям НД
1997, ноябрь	2	410, 440		Все серии соответствовали требованиям НД
1998, март – май	4	380, 410, 420, 500		Все серии соответствовали требованиям НД
1998, ноябрь	1	408, 510	345, 350, 360	Серия соответствовала требованиям НД, контроль повторяли 2 раза на удвоенном количестве животных
2001, май	1	400, 425	350	Серия соответствовала требованиям НД, повторяли
2001, октябрь	4	370, 390, 405, 410		Все серии соответствовали требованиям НД
2002, апрель			375, 380, 390	Обнаружена скрытая (сопутствующая) инфекция у морских свинок. 7 серий выпущены без контроля специфической безопасности
2002, декабрь	10	400, 410, 500	370, 375, 380, 400	
2003, ноябрь	4	400, 450, 500	380, 400, 410, 430	3 серии соответствовали требованиям НД. 1 серия забракована (контроль повторяли 3 раза)
2004, декабрь	6	375, 380, 390, 395, 400	320, 350,	Все серии соответствовали требованиям НД, контроль 1 серии повторяли
2005, ноябрь	3	375, 400	320, 410, 415, 430, 580, 630	2 серии забракованы по показателю «специфическая безопасность», контроль 1 серии повторяли
2006, сентябрь	3	460, 480*		Все серии соответствовали требованиям НД

\* При контроле каждой серии использовали по 2 морских свинки.

для культивирования и выделения туляремийного микроба (ФТ-агар), а также просматривали мазки-отпечатки органов, окрашенные иммуноглобулинами диагностическими туляремийными флуоресцирующими. При вскрытии павших животных отмечали состояние тканей в месте введения, характер и распространенность изменений в них и внутренних органах. Наиболее выраженные изменения у морских свинок наблюдались при наличии сопутствующей инфекции. У животных, возможно, под воздействием массивной дозы вакцины развивалось обострение хронических заболеваний, приводящее к их гибели.

В 2005 г. было отконтролировано 3 серии вакцины на животных, полученных из питомников Саратовской области, из них 2 серии не соответствовали требованиям ФСП по «Специфической безопасности». Для выяснения причин нестабильности показателя «Специфическая безопасность» в феврале 2006 г. безопасность вакцины этих серий была изучена в лаборатории туляремии ГУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи. Контроль проводили на морских свинках массой 355–530 г (использовали по 2 животных на каждую серию), которым подкожно вводили по  $5 \cdot 10^9$  м.к./мл вакцины. Погибло по одному животному массой 380 и 405 г от каждой серии вакцины на 8-е сутки после введения. Дополнительно использовали аналогичную методику контроля, но с уменьшенной вдвое концентрацией вакцины. От одной серии погибла 1 морская свинка на 14-е сутки. Обе серии вакцины были забракованы.

Для решения вопроса о внесении изменений в нормативную документацию на предприятии-изготовителе в период с июля по ноябрь 2006 г. был проведен контроль специфической безопасности 10 серий вакцины, на каждую серию использовали по 5 морских свинок (табл. 2). Также было изучено 10 серий вакцины в период с февраля по май 2007 г, используя для контроля каждой серии по 3 животных массой от 370 до 420 г. В результате проведенных исследований установлено, что введение морским свинкам разных серий туляремийной вакцины в дозе  $5 \cdot 10^9$  м.к./мл приводило к уменьшению массы животных к 15 сут наблюдения. В большинстве случаев вводимая доза вакцины не вызывала гибели животных. Вместе с тем в первом случае от 3 серий вакцины погибло по 1 морской свинке из 5 на 6, 10 и 13-е сутки. Во втором эксперименте от 2 серий вакцины пали по 1 морской свинке из 3 на 3 и 10-е сутки. В некоторых случаях был отмечен некроз тканей на месте введения вакцины у 1–2 животных от серии.

При этом следует отметить, что критерий выживаемости при контроле туляремийной вакцины достаточно информативен. Если вакцина «Специфически безопасна», морские свинки нормального физиологического состояния и соответствующие по массе требованиям нормативной документации выживают в течение всего срока наблюдения (15 сут). При этом доза, вводимая животным, в 25 раз превышает накожную дозу для людей.

На основании полученных данных в норматив-

Результаты контроля специфической безопасности вакцины туляремийной в филиале ФГУП НПО «Микроген» «Омском предприятии по производству бакпрепаратов» в 2006 г.

№	Дата контроля	Масса животных до контроля, г	Масса животных после контроля, г	Примечание
1	14–29 июля	412±12	378±12	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
2	14–29 июля	400±21	340±28	1 животное массой 370 г погибло на 6-е сутки наблюдения
3	14–29 июля	380±20	301±17	1 животное массой 370 г погибло на 10-е сутки наблюдения
4	4–19 августа	371±1	296±5	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
5	6–23 сентября	414±8	338±53	1 животное массой 418 г погибло на 13-е сутки наблюдения
6	6–23 сентября	403±22	328±38	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
7	10–25 октября	388±13	361±33	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
8	3–18 ноября	382±21	372±8	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
9	3–18 ноября	388±13	380±11	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения
10	3–18 ноября	374±4	368±6	Все животные выжили в течение 15 сут наблюдения

ную документацию на туляремийную живую вакцину в раздел «Специфическая безопасность» было рекомендовано внести изменение – проводить контроль на 3 морских свинках массой не менее 400 г. Вакцину следует считать безопасной, если выживают все или 2 морские свинки. В случае гибели животных, для выяснения причины, их следует вскрывать и проводить бактериологическое исследование.

Таким образом, для проведения контроля специфической безопасности туляремийной вакцины необходимо использовать здоровых, стандартных морских свинок. При этом следует учитывать массу тела животных, микробиологический статус, строго соблюдать условия их содержания и кормления.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ВФС 42-105-ВС-87. Вакцина туляремийная живая сухая
2. Емельянова О.С. Журн. микробиол. 1957; 8:125–9.
3. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х; 2004. 448 с.
4. Никифоров В.В., Кареткина Г.Н. Туляремия: от открытия до наших дней. Инфекционные болезни. 2007; 5(1):67–76.
5. Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. Природная очаговость, эпидемиология и профилактика туляремии. М.: Медицина; 1970. 272 с.
6. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ Онищенко Г.Г. № 33 от 20.12.2005 г. «Об усилении мероприятий по предупреждению распространения туляремии в Российской Федерации».
7. Сиротюк Л.В. Распределение антигена в органах морских свинок привитых туляремийной вакциной. Стандарты, штаммы и методы контроля бактериальных и вирусных препаратов: Сб. науч. тр. 1976; 2:226–8.
8. ФС 42-3178-95. Вакцина туляремийная живая сухая
9. ФСП 42-0504-3759-04. Вакцина туляремийная живая сухая.

#### Об авторах:

Барулина И.С., Саяпина Л.В. Государственный институт стандартизации и контроля им. Л.А.Тарасевича. 119002, Москва, ул. Сивцев Вражек, д. 41. Тел.: (845-2) 51-54-46.

Байдалова Н.П., Хорева И.И. Филиал ФГУП НПО «Микроген» «Омское предприятие по производству бакпрепаратов». Омск.

Мещерякова И.С., Кормилицына М.И. НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН. Москва.

Коровкин С.А. НПО «Микроген». Москва.

I.S.Barulina, L.V.Sayapina, N.P.Baidalova, I.I.Khoreva, I.S.Mescheryakova, M.I.Kormilitsyna, S.A.Korovkin

#### Assessment of “Specific Safety” Index of the Live Tularemia Vaccine

L.A.Tarasevich SISC, Moscow; Omsk Facility for Bacteriological Preparations Production, Branch of SPU “Microgen”, Omsk; N.F.Gamaleya RIEM of RAMS, Moscow; SPU “Microgen”, Moscow

Analyzed were the results of specific safety control of the live tularemia dry vaccine used for tularemia prophylaxis. During the period of 1997–2006 this index was shown to be unstable. Specific safety of the vaccine is one of the main parameters of its quality, and in cases it does not meet the requirements of the normative documentation (ND) the vaccine is rejected during the control. It was proposed to introduce amendments in ND and to use for vaccine control standard animals, the conditions of their keeping being strictly observed.

*Key words:* tularemia prophylaxis, vaccine quality evaluation, tularemia vaccine, specific safety.

#### Authors:

Barulina I.S., Sayapina L.V. L.A.Tarasevich SISC. 119002, Moscow, Sivtsev Vrazhek, 41.

Baidalova N.P., Khoreva I.I. Omsk Facility for Bacteriological Preparations Production, Branch of SPU “Microgen”. Omsk.

Mescheryakova I.S., Kormilitsyna M.I. N.F.Gamaleya RIEM of RAMS. Moscow.

Korovkin S.A. SPU “Microgen”. Moscow.

Поступила 29.10.08.