

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-87-93

УДК 615.371

С.М. Суханова, Л.В. Саяпина, З.Е. Бердникова, А.С. Тихонова, В.И. Климов

ПРОБЛЕМЫ ОЦЕНКИ «СТЕРИЛЬНОСТИ» ЖИВЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ВАКЦИН*ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация*

Цель исследований – анализ нормативных показателей и методик, используемых при определении наличия посторонних микроорганизмов в живых бактериальных вакцинах. **Материалы и методы.** В работе использованы материалы Государственной фармакопеи СССР IX–XI изданий, Государственной фармакопеи Российской Федерации XII–XIV изданий, а также НД/ФСП на девять наименований живых вакцин. **Результаты и обсуждение.** Учитывая специфику живых вакцин, процесс их производства и контроля качества должен направляться на исключение возможности контаминации микроорганизмами, отличающимися от производственных штаммов. Установлено, что в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют единая терминология для обозначения показателя и четкие критерии интерпретации результатов испытания оценки качества живых бактериальных вакцин при определении стерильности/контаминации посторонними бактериями и грибами. В соответствии с требованиями действующих изданий фармакопеи РФ выявление контаминации в живых вакцинах для парентерального введения рекомендовано проводить по различным методикам и критериям оценки (ОФС «Стерильность» и ОФС «Микробиологическая чистота»). Проведенные исследования определили необходимость совершенствования нормативной базы в части требований к выявлению контаминации посторонними бактериями и грибами. Рекомендовано в нормативных документах использовать единое наименование показателя «Отсутствие посторонних бактерий и грибов». Даны рекомендации по совершенствованию методик и требований к оценке контаминации бактериями и грибами живых бактериальных вакцин. Разработанные предложения по гармонизации требований к оценке качества вакцин, содержащих другие живые микроорганизмы, могут использоваться при подготовке соответствующих нормативно-правовых документов (ОФС, ФС, НД и др.).

Ключевые слова: живые вакцины, оценка качества, контаминация, отсутствие посторонней микрофлоры, стерильность, безопасность.

Корреспондирующий автор: Суханова Светлана Михайловна, e-mail: SuhanovaSM@expmed.ru.

Для цитирования: Суханова С.М., Саяпина Л.В., Бердникова З.Е., Тихонова А.С., Климов В.И. Проблемы оценки «стерильности» живых бактериальных вакцин. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 3:87–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-87-93

S.M. Sukhanova, L.V. Sayapina, Z.E. Berdnikova, A.S. Tikhonova, V.I. Klimov

Problems of Assessment of Live Bacterial Vaccine Sterility*Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation*

Abstract. Objective of the study – analysis of standard indicators and methods, utilized for determination of presence of contaminating microorganisms in live bacterial vaccines. **Materials and methods.** We used the data from the State Pharmacopeia of the USSR, 9th–11th editions; State Pharmacopeia of the Russian Federation, 12th–14th editions; as well as regulatory documentation/manufacturer’s pharmacopoeial monographs for 9 items of live vaccines. **Results and discussion.** Taking into account the specificity of live vaccines, the process of their manufacturing and quality control must target elimination of the possibility of contamination with microorganisms that differ from production strains. It is established that currently there is no unified terminology for determining the indicator in the Russian Federation, as well as clear-cut criteria for interpretation of test results for quality assessment of live bacterial vaccines when testing sterility/contamination with foreign bacteria and fungi. In compliance with the requirements of the current RF Pharmacopeia editions, detection of contamination in live vaccines for parenteral administration should be carried out using various methods and assessment criteria (General Pharmacopeia Monograph (GPM) “Sterility” and GPM “Microbiological purity”). Performed investigations have revealed the necessity to enhance the regulatory framework in regard to detection of contamination with foreign bacteria and fungi. It is advised to use unified nomination of the indicator, specifically, “Absence of foreign bacteria and fungi” in the normative documents. Given are the recommendations on improvement of methods and requirements to the assessment of live bacterial vaccine contamination. Developed proposals on harmonization of the quality assessment requirements of vaccines containing other live microorganisms can be used for drawing up corresponding normative-regulatory documents (GPM, Pharmacopeia monograph, regulatory documentation *et al.*).

Key words: live vaccines, quality assessment, contamination, absence of foreign micro-flora, sterility, safety.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Svetlana M. Sukhanova, e-mail: SuhanovaSM@expmed.ru.

Citation: Sukhanova S.M., Sayapina L.V., Berdnikova Z.E., Tikhonova A.S., Klimov V.I. Problems of Assessment of Live Bacterial Vaccine Sterility. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2019; 3:87–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-87-93

Received 29.03.19. *Accepted* 18.04.19.

Svetlana M. Sukhanova, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6621-4384>

Lidia V. Sayapina, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1958-7342>

Zinaida E. Berdnikova, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9865-4250>

Vladimir I. Klimov, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1444-6591>

Неотъемлемой составляющей безопасности иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП), к которым относятся вакцины, анатоксины, токсины, сыворотки, иммуноглобулины и аллергены, является отсутствие микробной контаминации [1, 2]. Наличие посторонней микрофлоры может не только привести к снижению эффективности препаратов, но и вызывать нежелательные реакции у пациентов [3, 4]. Характер производства, контроля и применения ИЛП не только для больных, но и для здоровых людей (включая детей первых дней жизни) требует особых мер безопасности [5–8]. Гарантией выпуска продукции, исключающей контаминацию чужеродными агентами, является строгое соблюдение правил надлежащей производственной практики, включающей использование адекватных методов контроля [9–11].

Особую группу ИЛП составляют вакцины, представляющие собой живую культуру аттенуированного штамма соответствующего патогенного микроорганизма (вирусы, бактерии, риккетсии) [3, 12, 13]. В настоящее время в Российской Федерации (РФ) зарегистрированы живые вакцины для иммунопрофилактики и иммунотерапии 13 инфекций, вызываемых бактериями, вирусами и риккетсиями. Живые бактериальные вакцины предназначены для профилактики таких опасных заболеваний, как чума, сибирская язва, бруцеллез, туляремия, туберкулез, а также для лечения рака мочевого пузыря. Вакцины применяются для предупреждения инфекционных заболеваний в рамках Национального календаря прививок, согласно которому, в частности, вакцинация новорожденных против туберкулеза проводится на 3–7 день жизни и по эпидемическим показаниям [3].

Процесс изготовления живых вакцин связан с повышенным риском контаминации при культивировании производственных штаммов, обусловленным вспомогательными материалами и питательными средами, а также сложностью ее выявления в готовом препарате. Учитывая специфику живых вакцин, процесс их производства, в первую очередь, должен быть направлен на исключение возможности контаминации микроорганизмами, отличающимися от производственных штаммов. При этом важным элементом системы обеспечения качества при производстве является валидация, т.е. документированное подтверждение соответствия технологического процесса, качества полупродуктов и готового лекарственного препарата установленным нормативным требованиям [5].

Принимая во внимание значимость и сложность оценки контаминации, невозможность определения стерильности бактериальных вакцин, представляющих собой живые микроорганизмы производственных штаммов, а также отсутствие публикаций по данной проблеме, проведение анализа действующих нормативных стандартов по данной проблеме является актуальным.

Целью работы явился анализ нормативных показателей и методик, используемых при определении

наличия посторонних микроорганизмов в живых бактериальных вакцинах.

В ходе работы требовалось решить следующие задачи:

- провести анализ отечественных фармакопейных требований и нормативной документации (НД) к проведению испытания и критериям оценки качества живых бактериальных вакцин при определении наличия посторонних бактерий и грибов;
- обосновать выбор единого наименования показателя, характеризующего микробиологическую безопасность живых вакцин в отношении контаминации посторонними бактериями и грибами;
- разработать предложения по совершенствованию методики и требований к оценке отсутствия посторонних бактерий и грибов в живых бактериальных вакцинах.

Материалы и методы

В работе использовали следующие нормативные документы:

- Государственная фармакопея СССР, IX изд., 1961 г.;
- Государственная фармакопея СССР, X изд., 1968 г.;
- Государственная фармакопея СССР, XI изд., вып. 2, 1989 г.;
- Государственная фармакопея Российской Федерации, XII изд., ч. 1, 2015 г.;
- Государственная фармакопея (ГФ) Российской Федерации XIII издания: общая фармакопейная статья (ОФС).1.8.1.0002.15 «Имунобиологические препараты»; ОФС.1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины; фармакопейная статья (ФС).3.3.1.0011.15 Вакцина бруцеллезная живая; ФС.3.3.1.0016.15 Вакцина сибиреязвенная живая; ФС.3.3.1.0018.15 Вакцина туберкулезная БЦЖ живая; ФС.3.3.1.0019.15 Вакцина туляремиальная живая; ФС.3.3.1.0022.15 Вакцина чумная живая;
- ГФ РФ XIV издания: ОФС.1.7.1.0010.18 Биологические лекарственные препараты; ФС.3.3.1.0052.18 Вакцина Ку-лихорадки М-44 живая; ФС.3.3.1.0053.18 Вакцина БЦЖ для иммунотерапии рака мочевого пузыря живая; ФС.3.3.1.0054.18 Вакцина Е сыпнотифозная комбинированная живая; НД/ФСР Р N001273/01-230911 Вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения; ФСР Р N001969/01-310308 Вакцина туберкулезная (БЦЖ), лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения; ФСР Р N001972/01-310308 Вакцина туберкулезная для щадящей первичной иммунизации (БЦЖ-М), лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного; ФСР Р N002348/01-010212 Вакцина туляремиальная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для внутрикожного введения и накожного скарификационного нанесения; ФСР Р N003612/01-

010212 Вакцина бруцеллезная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и кожного скарификационного нанесения; ФСП ЛСР-005759/08-220708 Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, кожного скарификационного нанесения и ингаляций; НД Р N001970/01 Имурон-вак (Вакцина БЦЖ для иммунотерапии рака мочевого пузыря, лиофилизат для приготовления суспензии для внутривезикулярного введения); ФСП ЛС-002153-180512 Вакцина Ку-лихорадки М-44 живая (Вакцина Ку-лихорадки М-44) лиофилизат для приготовления суспензии для кожного скарификационного нанесения.

Результаты и обсуждение

Впервые общие требования к проведению испытаний вакцин вошли в Государственную фармакопею СССР IX издания. Отсутствие контаминации в вакцинах независимо от их природы оценивали в испытании на стерильность. При этом детальное описание методики и указания по учету результатов оценки качества живых вакцин отсутствовали. В период действия ГФ СССР X, XI и ГФ РФ XII изданий требования к живым вакцинам включали в Фармакопейные статьи предприятий (ФСП) или в нормативную документацию, в соответствии с которыми отсутствие контаминации в одних определяли по показателю «Стерильность», в других регламентирующих документах – по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов». Требования к качеству живых бактериальных вакцин с перечнем необходимых показателей и методов контроля были внесены в ГФ РФ XIII издания и дополнены в утвержденной ГФ РФ XIV издания в соответствующих общих фармакопейных статьях и фармакопейных статьях

(Приказ Минздрава РФ от 31.10.2018 г. № 749). Однако обозначение микробиологического показателя их качества в данных документах не приведено, а в примечании к ОФС.1.2.4.0003.18 «Стерильность» указано, что испытания осуществляют в соответствии с требованиями НД.

Большинство выпускаемых в Российской Федерации живых бактериальных вакцин применяют для парентерального подкожного, внутривезикулярного введения и кожного скарификационного нанесения. В соответствии с ОФС 1.4.1.0007.15 препараты, предназначенные для парентерального применения, должны выдерживать испытание на стерильность. Необходимо отметить, что стерильность образца и соответствие требованию испытания на «Стерильность» не являются тождественными понятиями. Стерильность трактуется, как отсутствие в образцах способных к размножению микроорганизмов, для выявления которых в настоящее время используют различные испытания, в том числе на отсутствие бактерий и грибов, вирусов и риккетсий, а также микоплазм. Оценка качества готовых препаратов живых бактериальных вакцин в отношении наличия в них вирусов и микоплазм требованиями действующих нормативных документов не предусмотрена. Поскольку испытание в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность» проводится с помощью питательных сред, обладающих ростовыми свойствами в отношении тест-штаммов аэробных и анаэробных бактерий и грибов, то удовлетворительный результат будет свидетельствовать лишь о том, что в образце не обнаружены бактерии и/или грибы. Результаты испытания образцов препаратов живых бактериальных вакцин, представленные на рис. 1 и 2,

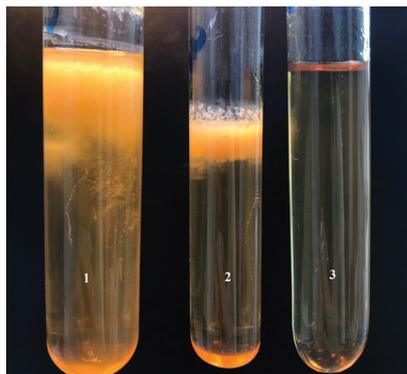


Рис. 1. Результаты инкубации (14 сут. при 35 °С) образцов вакцины бруцеллезной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения и кожного скарификационного нанесения:

1 – первичный посев препарата в питательную (тиогликолевую) среду в соотношении 1:20; 2 – пересев, на 7-е сутки; 3 – контрольный образец питательной (тиогликолевой) среды

Fig. 1. Results of incubation at 35 °C (14 days) of Live brucellosis vaccine, lyophilizate for preparation of suspension for subcutaneous injection and skin scarification application:

1 – primary seeding into nutrient (thioglycolate) medium, at the ratio of 1:20; 2 – subculture, on day 7; 3 – control sample of the nutrient (thioglycolate) medium

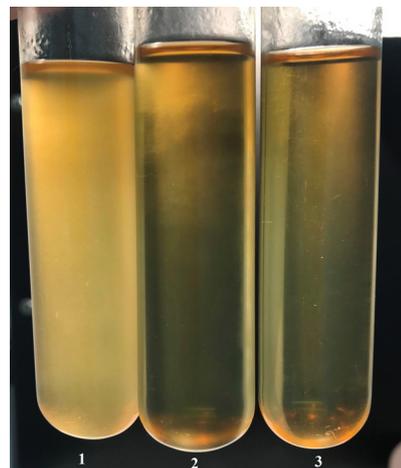


Рис. 2. Результаты инкубации (14 сут. при 35 °С) образцов вакцины БЦЖ для иммунотерапии рака мочевого пузыря, лиофилизата для приготовления суспензии для внутривезикулярного введения:

1 – первичный посев препарата в питательную (тиогликолевую) среду в соотношении 1:20; 2 – пересев, на 7-е сутки; 3 – контрольный образец питательной (тиогликолевой) среды

Fig. 2. Results of incubation at 35 °C (14 days) of BCG vaccine samples for immune therapy of bladder cancer, lyophilizate for preparation of suspension for intravesical administration:

1 – primary seeding into nutrient (thioglycolate) medium, at the ratio of 1:20; 2 – subculture, on day 7; 3 – control sample of the nutrient (thioglycolate) medium

свидетельствуют о том, что живая культура вакцинного штамма, используемого при изготовлении той или иной вакцины, в процессе инкубации вызывает специфический рост, сопровождающийся появлением мутности, осадка, хлопьев и других изменений жидкой питательной среды, а также указывает на несоответствие качества образца установленным критериям испытания по показателю «Стерильность». Учитывая вышеизложенное, живые вакцины не могут быть стерильными в полном смысле этого термина, а испытание по показателю «Стерильность» для подтверждения отсутствия в них посторонних бактерий и грибов не представляется корректным, поскольку критерием соответствия является отсутствие роста микроорганизмов. Всемирная организация здравоохранения под стерильностью препаратов, представляющих собой живые микроорганизмы, рекомендует понимать отсутствие контаминации другими микроорганизмами [13].

Таким образом, для подтверждения отсутствия в живых бактериальных вакцинах контаминации, обусловленной бактериями и грибами, необходимо применять иные критерии оценки качества, требования к порядку учета и интерпретации результатов, позволяющие дифференцировать рост микроорганизмов-контаминантов от изменений питательной среды, вызванных ростом вакцинного штамма, а для наименования показателя качества использовать терминологию, отражающую суть проводимого испытания.

В ходе анализа нормативных документов установлено, что в настоящее время в Российской Федерации отсутствует единая терминология для обозначения показателя оценки качества живых бактериальных вакцин при определении стерильности – контаминации бактериями и грибами. Для этих целей используются различные варианты редакции наименования показателя, испытание по которым предполагает возможность выявления не только посторонних бактерий и/или грибов, но и других микроорганизмов.

В частности, согласно ОФС.1.7.1.0004.15 «Вакцины и анатоксины», оценку качества живых бактериальных вакцин предусмотрено проводить по показателю «Отсутствие посторонних микроорганизмов», согласно ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты» и ОФС.1.8.1.0002.15 «Иммунобиологические препараты» по показателю «Отсутствие посторонней микрофлоры». В фармакопейных статьях и нормативной документации производителей на живые бактериальные вакцины, наименование показателя представлено в иной интерпретации: «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов», однако порядок проведения испытаний по таким показателям в отечественной фармакопее отсутствует. В таблице приведены различия в наименованиях показателя и в требованиях к отсутствию контаминации бактериями и грибами в нормативных документах на вакцины, содержащие живую культуру производственных штаммов бактерий и риккетсий.

Разночтения в наименовании показателя и отсутствие описания процедуры проведения испытания в Государственной фармакопее Российской Федерации вызывают терминологическую путаницу и приводят к затруднениям при оценке микробиологического качества живых бактериальных вакцин. Кроме того, выявление контаминации бактериями и грибами в живых вакцинах для парентерального введения, согласно ОФС.1.8.1.0002.15 «Иммунобиологические препараты», ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты» и ОФС.1.7.1.0004.15 «Вакцины и анатоксины», рекомендовано проводить по различным методикам и критериям оценки, по ОФС «Стерильность» и ОФС «Микробиологическая чистота» соответственно. При этом требование ОФС «Микробиологическая чистота» (содержание общего числа аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов до 50 КОЕ/мл) к препаратам группы 5.1.Б (живые вакцины для внутрикожного введения и накожного скарификационного нанесения) не согласуется с требованием ФС и НД к вакцинам, зарегистрированным в РФ, согласно которым они не должны содержать контаминантов. Использование некорректного наименования показателя качества приводит к неадекватной или неопределенной формулировке требований и размытым критериям оценки результатов исследования.

На наш взгляд, микробиологическим показателем качества живых бактериальных вакцин, подтверждающим отсутствие контаминации бактериями и грибами, может служить наименование, доказывающее не что иное, как отсутствие посторонних бактерий и грибов. Аналогичным образом данный показатель качества живых вакцин трактуется и Европейской фармакопеей – «Bacterial and fungal contamination» [14, 15]. Наиболее точная формулировка наименования показателя, согласующаяся с требованиями Европейской фармакопеей, представлена в ФС на вакцину туберкулезную БЦЖ – «Отсутствие посторонних бактерий и грибов» (таблица).

Проведенный анализ требований действующих изданий ГФ РФ к методикам и критериям оценки качества живых бактериальных вакцин при определении наличия посторонних бактерий и грибов показал, что в настоящее время испытание традиционно проводят методом прямого посева согласно ОФС «Стерильность» [16]. Однако детальное описание методики и процедура учета результатов, как правило, отсутствует. Например, испытание живой вакцины БЦЖ согласно ФС.3.3.1.0018.15 проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» с нормативным требованием наличия в образце микобактерий БЦЖ, при этом порядок учета результатов испытания и процедуры дифференциации/идентификации микобактерий БЦЖ от посторонних бактерий и грибов не описаны.

Методики испытания на «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов» туляремийной, чумной, сибиреязвенной и бруцеллезной вакцин

Требования к оценке наличия посторонних бактерий и грибов в живых бактериальных вакцинах
Requirements to the assessment of presence of extraneous bacteria and fungi in live bacterial vaccines

Препараты Preparations	Нормативная документация Normative documentation	Наименование показателя Indicator description	Требования Requirements
Вакцина туберкулезная БЦЖ живая Live tuberculosis vaccine BCG	ФС.3.3.1.0018.15 Pharmacopeia monograph (PM).3.3.1.0018.15	Отсутствие посторонних бактерий и грибов Absence of foreign bacteria and fungi	Посторонняя микрофлора (бактерии, грибы) должна отсутствовать, за исключением микобактерий БЦЖ Foreign micro-flora (bacteria, fungi) must be absent, with the exception of mycobacteria BCG
	ФСП Р N001969/01-310308 Manufacturer's pharmacopoeial monograph (MPM) Registered ® N001969/01-310308	Отсутствие посторонней микрофлоры Absence of foreign micro-flora	Не должна содержать посторонней микрофлоры Must be clear of any foreign micro-flora
Вакцина туберкулезная БЦЖ-М живая Live tuberculosis vaccine BCG-M	ФСП Р N001972/01-310308 MPM R N001972/01-310308	Нет No	Нет No
	ФС (отсутствует) PM (not available)		
Вакцина БЦЖ для иммунотерапии рака мочевого пузыря живая Live BCG vaccine for immune therapy of bladder cancer	ФС.3.3.1.0053.18 PM.3.3.1.0053.18	Отсутствие посторонних бактерий и грибов Absence of foreign bacteria and fungi	Посторонняя микрофлора (бактерии, грибы) должна отсутствовать, за исключением микобактерий БЦЖ Foreign micro-flora (bacteria, fungi) must be absent, with the exception of mycobacteria BCG
	НД Р N001970/01 ND R N001970/01		
Вакцина туляремиальная живая Live tularemia vaccine	ФС.3.3.1.0019.15 PM.3.3.1.0019.15		
	ФСП Р N002348/01-010212 MPM R N002348/01-010212		
Вакцина чумная живая Live plague vaccine	ФС.3.3.1.0022.15 PM.3.3.1.0022.15	Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов Absence of foreign microorganisms and fungi	Не должна содержать посторонних микроорганизмов и грибов Must be clear of any foreign microorganisms and fungi
	ФСП ЛСР-005759/08-220708 MPM on medicinal drug R 005759/08-220708		
Вакцина бруцеллезная живая Live brucellosis vaccine	ФС.3.3.1.0011.15 PM.3.3.1.0011.15		
	ФСП Р N003612/01-010212 MPM R N003612/01-010212		
Вакцина сибиреязвенная живая Live anthrax vaccine	ФС.3.3.1.0016.15 PM.3.3.1.0016.15		
	ФСП Р N001273/01-230911 MPM R N001273/01-230911		
Вакцина Е сыпнотифозная комбинированная живая Combined live typhus vaccine E	ФС.3.3.1.0054.18 PM.3.3.1.0054.18	Стерильность Sterility	Должен быть стерильным Must be sterile
Вакцина Ку-лихорадки М-44 живая Live Q fever vaccine M-44	ФС.3.3.1.0052.18 PM.3.3.1.0052.18	Стерильность Sterility	Не должна быть контаминирована посторонней микрофлорой Must not be contaminated by foreign micro-flora
	ФСП ЛС-002153-180512 MPM on medicinal drug 002153-180512		Должна быть стерильна Must be sterile

изложены более подробно и включают указания не только на метод посева, но и на необходимость соблюдения соотношения объема исследуемого образца и питательной среды (1:20), а также пересева на 5–7 сут инкубирования и последующий через 14 сут просмотр мазков посевов, окрашенных по Граму. Для интерпретации полученных результатов испытания туляремиальной, бруцеллезной и чумной

вакцин дополнительно при выявлении в мазках грамотрицательных палочек, отличающихся по морфологии от соответствующих вакцинных штаммов, предусмотрено исследование мазков, обработанных флуоресцентными диагностическими иммуноглобулинами, но в то же время описание морфологии искомым туляремиальным бактериям, бруцеллам и чумного микроба не приводится. Помимо этого выявлено не-

соответствие с требованиями ОФС «Стерильность» по рекомендуемой температуре 35–37 °С инкубации посевов образцов сибиреязвенной вакцины.

Сравнительный анализ фармакопейных требований ОФС и ФС ГФ РФ XIII и XIV изданий и НД производителей позволил выявить существенные методические недоработки и расхождения, затрудняющие проведение достоверной оценки и объективного представления результатов определения микробиологического загрязнения живых вакцин. Установленные проблемы, главным образом, относятся к разночтениям в наименовании показателя, полноте изложения методики и критериям оценки результатов испытания. В НД встречаются ссылки на утратившие свое действие документы – МУК 4.1/2.588-96 и ГФ РФ XII издания. На наш взгляд, наиболее остро стоит вопрос интерпретации результатов испытания, требующий детальной проработки процедур, позволяющих дифференцировать изменения среды, обусловленные ростом соответствующего вакцинного штамма от изменений, вызванных ростом контаминанта или тест-штамма микроорганизма при исследовании антимикробного действия живых вакцин. В рамках лабораторной экспертизы при отсутствии подробного изложения методики анализа и четких критериев соответствия не представляется возможным оценить ее воспроизводимость, а также качество испытуемых образцов.

Учитывая вышеизложенное, можно сделать вывод, что практически вся нормативная база в части методики выявления контаминации посторонними бактериями и грибами в живых бактериальных вакцинах нуждается в актуализации и совершенствовании с учетом специфики частных НД.

Для совершенствования требований при разработке новых нормативно-правовых документов целесообразно использовать единое наименование показателя «Отсутствие посторонних бактерий и грибов»; испытание проводить методом прямого посева на тиогликолевую среду в условиях инкубации при температурах (32,5±2,5) и (22,5±2,5) °С, так как метод мембранной фильтрации (диаметр пор 0,45 мкм мембран) для испытания живых бактериальных вакцин не применим из-за их состава; определять пригодность каждой партии тиогликолевой среды, в том числе и в отношении загрязнений, мешающих достоверному установлению контаминации в окрашенных по Граму мазках [8]. Следует оценить пригодность методики, учитывающей особенности живых вакцин, включая определение наличия/отсутствия антимикробного действия и способа его устранения, а также необходимости пробоподготовки и пересева на 5–7 сут; разработать порядок учета, интерпретации результатов и критериев оценки, в том числе характера типичного роста вакцинного штамма и способов его дифференциации от контаминантов в тиогликолевой среде, в мазках, окрашенных по Граму и специфическими флуоресцирующими диагностическими иммуноглобулинами [17].

Разработанные предложения могут также использоваться для совершенствования методик оценки качества по исследуемому показателю, способствовать снижению производственных рисков и повышению безопасности других живых вакцин для парентерального введения. В частности, это актуально для оценки качества вакцины Ку-лихорадки М-44 живой и вакцины Е сыпнотифозной комбинированной живой, содержащих взвесь живой культуры кокциелл Бернета и риккетсий Провачека соответственно, которые согласно требованиям фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания «должны быть стерильными».

Таким образом, проведенные исследования позволили определить необходимость совершенствования нормативной базы в части требований к проведению испытания живых бактериальных вакцин по выявлению контаминации посторонними бактериями и грибами. Для оценки наличия в живых бактериальных вакцинах посторонних бактерий и грибов целесообразно использовать единое наименование показателя – «Отсутствие посторонних бактерий и грибов». Разработанные предложения по гармонизации требований к оценке качества аналогичных препаратов, могут быть использованы при подготовке соответствующих нормативно-правовых документов (ОФС, ФС, НД и др.).

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).

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ (ред. от 06.06.2019 г.) «Об обращении лекарственных средств».
2. WHO, Vaccine Standardization. 2019. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.whogis.com/biologicals/vaccines/en/> (дата обращения 18.03.2019).
3. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х, 2010. 512 с.
4. Вельц Н.Ю., Букатина Т.М., Пастернак Е.Ю., Николаева Т.Н., Романова С.В. Правила надлежащей лабораторной практики: анализ изменений законодательства. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2017; 5(1):27–31.
5. Приказ Минпромторга РФ от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении правил организации производства и контроля качества лекарственных средств».
6. Серия технических докладов ВОЗ. 25-й доклад. ВОЗ; 1975. № 530. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41053/WHO_TRS_530_rus.pdf?sequence=2&isAllowed=y (дата обращения 18.03.2019).
7. Lolas A. The role of microbiology in the design and development of pharmaceutical manufacturing processes. *Pharm. Bioprocess*. 2014; 2(2):125–8.
8. Gupta R.K. Role of Environmental Monitoring and Microbiological Testing During Manufacture of Sterile Drugs and Biologics. *American Pharmaceutical Review*. 2014; 17(6)46–55. URL: <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/169384-Role-of-Environmental-Monitoring-and-Microbiological-Testing-During-Manufacture-of-Sterile-Drugs-and-Biologics/> (дата обращения 18.03.2019).
9. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII издание. Москва; 2015. Т. 1–3.
10. Государственная фармакопея Российской Федерации

XIV издание. Москва; 2018. Т. 1–4.

11. Nunnally B.K., Turula V.E., Sitrin R.D., editors. Vaccine Analyses: Strategies, Principles, and Control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015. 665 p. DOI: 10.1007/978-3-662-45024-6.

12. Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Олефир Ю.В. Современное состояние вакцинопрофилактики особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2:107–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-107-110.

13. WHO, Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities, Points to consider for manufacturers of human vaccines, November, 2012. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf (дата обращения 18.03.2019).

14. BCG for immunotherapy. European pharmacopoeia. 9.0.01/2011:1929.

15. BCG vaccine, freeze-dried European pharmacopoeia 9.0.01/2012:0163.

16. Суханова С.М., Захарова Н.Е. «Микробиологическая чистота» сухих питательных сред, используемых для оценки стерильности иммунобиологических лекарственных препаратов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18(3):191–7. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-3-191-197.

17. Касина И.В., Алексеева С.А., Бердникова З.Е., Немировская Т.И., Алехина А.С. Перспективы совершенствования экспертизы качества вакцины туляремийной живой. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017; 17(4):240–7.

References

1. Federal Law of the Russian Federation dated April 12, 2010 No 61-FL (edit. dated June 06, 2019) «On drug circulation».

2. WHO, Vaccine Standardization. 2019. (Cited 18 Mar 2019). [Internet]. Available from: <http://www.whogis.com/biologicals/vaccines/en/>.

3. Medunitsyn N.V. [Vaccinology]. M.: “Triada-X”, 2010. 512 p.

4. Vel'ts N.Yu., Bukatina T.M., Pasternak E.Yu., Nikolaeva T.N., Romanova S.V. [Guidelines on good laboratory practice: analysis of the changes in legislation]. *Biobezopasnost' i Risk Farmakoterapii. [Biosafety and Risk of Pharmacotherapy]*. 2017; 5(1):27–31.

5. Order of the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation dated June 14, 2013 No 916 “On approval of the rules for organization of production and quality control of drugs”.

6. Technical Report Series WHO. 25-th Report. WHO; 1975. No 530. [Internet] (Cited 18 Mar 2019) Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41053/WHO_TRS_530_rus.pdf?sequence=2&isAllowed=y.

7. Lolas A. The role of microbiology in the design and development of pharmaceutical manufacturing processes. *Pharm. Bioprocess*. 2014; 2(2):125–8.

8. Gupta R.K.. Role of Environmental Monitoring and

Microbiological Testing During Manufacture of Sterile Drugs and Biologics. *American Pharmaceutical Review*. 2014; 17(6)46–55. (Cited 18 Mar 2019). Available from: <https://www.american-pharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/169384-Role-of-Environmental-Monitoring-and-Microbiological-Testing-During-Manufacture-of-Sterile-Drugs-and-Biologics/>.

9. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIII edition. Moscow; 2015. Vol. 1–3.

10. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition. Moscow; 2018. Vol. 1–4.

11. Nunnally B.K., Turula V.E., Sitrin R.D., editors. Vaccine Analyses: Strategies, Principles, and Control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015. 665 p. DOI: 10.1007/978-3-662-45024-6.

12. Sayapina L.V., Bondarev V.P., Olefir Yu.V. [Current State of the Vaccine Prophylaxis of Particularly Dangerous Infections]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:107–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-107-110.

13. WHO, Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities, Points to consider for manufacturers of human vaccines, November, 2012. (Cited 18 Mar 2019) [Internet]. Available from: http://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf.

14. BCG for immunotherapy. European pharmacopoeia. 9.0.01/2011:1929.

15. BCG vaccine, freeze-dried European pharmacopoeia 9.0.01/2012:0163.

16. Sukhanova S.M., Zakharova N.E. [Microbial Quality of Dehydrated Media Used in the Sterility Testing of Immunobiological Medicinal Products]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]*. 2018; 18(3):191–7. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-3-191-197.

17. Kasina I.V., Alekseeva S.A., Berdnikova Z.E., Nemirovskaya T.I., Alekhina A.S. [Prospects for improving evaluation of live tularemia vaccine quality]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie. [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]* 2017; 17(4):240–7.

Authors:

Sukhanova S.M., Sayapina L.V., Berdnikova Z.E., Tikhonova A.S., Klimov V.I. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: SuhanovaSM@expmed.ru.

Об авторах:

Суханова С.М., Саяпина Л.В., Бердникова З.Е., Тихонова А.С., Климов В.И. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: SuhanovaSM@expmed.ru.

Поступила 29.03.19.

Принята к публ. 18.04.19.