

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

УДК 616.932:615.371

О.В. Громова, С.А. Воробьева, О.А. Волох, О.Д. Клокова, Л.Ф. Ливанова, Н.И. Белякова,
Е.З. Попова, О.А. Лобовикова, И.В. Шульгина, И.Г. Швиденко, А.К. Никифоров

Изучение стабильности холерной химической вакцины в новой первичной упаковке

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Вакцина холерная бивалентная химическая – единственный препарат для профилактики холеры, зарегистрированный в Российской Федерации. Вакцина выпускалась во флаконах стеклянных по 210 таблеток. В то же время современные тенденции диктуют необходимость производства препарата для удобства потребителя в различной фасовке и более практичной упаковке. **Цель работы** – исследование стабильности свойств иммунологического лекарственного препарата «Вакцина холерная бивалентная химическая» с измененной фасовкой и в новой первичной упаковке. **Материалы и методы.** При исследовании качества серий вакцины холерной бивалентной химической оценены физико-химические показатели, содержание формалина, специфическая активность и безопасность, аномальная токсичность, иммуногенность, микробиологическая чистота. Стабильность по показателю «специфическая активность» оценивали методом дот-иммуноанализа. **Результаты и обсуждение.** В результате выполнения данной работы экспериментально обосновано применение нескольких вариантов фасовки и новой первичной упаковки холерной вакцины. Установлена стабильность готового препарата вакцины в тесте «ускоренного старения» и при длительном хранении. Экспериментально показана возможность использования дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченого коллоидным золотом, для мониторинга стабильности холерной вакцины.

Ключевые слова: холера, вакцина холерная бивалентная химическая, первичная упаковка, стабильность, фармакопейная статья предприятия.

Корреспондирующий автор: Громова Ольга Викторовна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Громова О.В., Воробьева С.А., Волох О.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Попова Е.З., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Швиденко И.Г., Никифоров А.К. Изучение стабильности холерной химической вакцины в новой первичной упаковке. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:164–167. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

Поступила 13.07.2023. Принята к публ. 31.07.2023.

O.V. Gromova, S.A. Vorob'eva, O.A. Volokh, O.D. Klokova, L.F. Livanova, N.I. Belyakova,
E.Z. Popova, O.A. Lobovikova, I.V. Shul'gina, I.G. Shvidenko, A.K. Nikiforov

Assessment of Stability of Chemical Cholera Vaccine in a New Primary Packaging

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The bivalent chemical cholera vaccine is the only drug for the prevention of cholera registered in the Russian Federation. The vaccine has been produced in glass bottles containing 210 tablets. At the same time, modern trends dictate the need to produce the drug in varying dispensing and more practical packaging for the convenience of the consumer. **The aim** of the work was to study the stability of the properties of the immunobiological medicinal product "Bivalent chemical cholera vaccine" with modified filling and in new primary packaging. **Materials and methods.** When studying the quality of bivalent chemical cholera vaccine batches, physicochemical parameters, formaldehyde content, specific activity and safety, abnormal toxicity, immunogenicity, and microbiological purity were assessed. Stability in terms of "specific activity" was evaluated using dot immunoassay. **Results and discussion.** As a result of this work, the use of several dispensing options and new primary packaging of cholera vaccine has been experimentally substantiated. The stability of the finished vaccine preparation has been established in the "accelerated aging" test and during long-term storage. The possibility of using dot immunoassay with a conjugate based on staphylococcal protein A, labeled with colloidal gold, to monitor the stability of cholera vaccine has been experimentally demonstrated.

Key words: cholera, bivalent chemical cholera vaccine, primary packaging, stability, pharmacopoeial monograph of the facility.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Olga V. Gromova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Gromova O.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Popova E.Z., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Shvidenko I.G., Nikiforov A.K. Assessment of Stability of Chemical Cholera Vaccine in a New Primary Packaging. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:164–167. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

Received 13.07.2023. Accepted 31.07.2023.

Gromova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0172-2964>
Vorob'eva S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3624-0850>
Volokh O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>
Klokova O.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7119-0516>
Livanova L.F., ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4894-6794>

Belyakova N.I., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1209-2769>
Popova E.Z., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6650-2300>
Lobovikova O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8085-2331>
Shul'gina I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5866-4091>
Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>

На территории Российской Федерации эпидемиологическая ситуация по холере характеризуется как стабильная и находится под постоянным контролем Роспотребнадзора [1]. В рамках действующей нормативно-правовой базы в России на системной основе проводится комплекс мероприятий, направленный на профилактику этой инфекции. Единственный препарат для профилактики холеры, зарегистрированный в Российской Федерации, – вакцина холерная бивалентная химическая, разработчиком и производителем которой является ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора [2].

Иммунобиологический лекарственный препарат (ИЛП) «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, представляет собой смесь холерогенанатоксина (ХА) и О-антигенов (О-Аг), полученных из культур холерного вибриона сероваров Инаба и Огава [3, 4]. Вакцина холерная расфасована по 210 таблеток во флаконы стеклянные, укупоренные резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками (ПУ № Р N001465/01).

Стабильность – одна из важнейших характеристик лекарственного препарата [5], критерием которой служит сохранение качества препарата, т.е. соответствие требованиям, установленным нормативной документацией (НД). Стабильность иммунобиологического лекарственного препарата при хранении и транспортировании во многом зависит от химического состава и свойств материала первичной упаковки. Изменения качества и свойств ИЛП могут быть вызваны его взаимодействием с системой укупорки [6]. Упаковка должна предохранять препарат от воздействия света, температуры, влажности, газов и микробной контаминации, обеспечивать его сохранность в течение определенного срока. Изучение стабильности должно быть представлено для каждой индивидуальной дозировки, лекарственной формы, типа и вместимости упаковки лекарственного препарата.

Ранее нами показана возможность оценки специфической активности готовой лекарственной формы вакцины и ее специфических компонентов методом дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом (ДИА ЗНЧ) [7, 8]. ДИА ЗНЧ показал высокую степень корреляции с методами, установленными НД. В связи с этим представляется перспективным его применение для оценки стабильности по показателю «специфическая активность» холерной вакцины.

Цель работы – исследование стабильности свойств ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая» с измененной фасовкой и в новой первичной упаковке.

Материалы и методы

Объект исследования – ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, серия 5 (коммерческая), дата выпуска – май 2016 г.; серии 09–011, 012–014, 015–017 (экспериментальные), дата выпуска – май 2016 г.

Изучение стабильности образцов препарата проводили методом «ускоренного старения» в течение 29 дней при температуре наблюдения (49,5±1) °С. Для расчета экспериментального срока хранения использовали действующую на момент исследования общую фармакопейную статью ОФС.1.1.0009.15. В процессе хранения в течение срока годности в новой первичной упаковке и новом варианте фасовки изучали сохранение свойств препарата в условиях, установленных НД ([9] и МУК 4.1/4.2.588-96. Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям). Оценку стабильности препарата проводили по показателям качества, включенным в спецификацию ФС П Р N001465/01, а также методом ДИА ЗНЧ [7]. В работе использовали стандартные образцы предприятия (СОП) «Сыворотка антихолерогенная кроличья» (АХС) и «Тест-токсин холерный». Содержание в таблетке вакцины О-антигена штаммов холерного вибриона О1 определяли в реакции непрямой гемагглютинации с «Сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной сухой для реакции агглютинации (РА)» по ТУ 8938-009-01898109-2007 (ФСР 2007/00468) производства Российского противочумного института «Микроб».

Результаты и обсуждение

Упаковка холерной химической вакцины в соответствии с производственной документацией производителя являлась многостадийным процессом, включающим подготовку и стерилизацию флаконов стеклянных, пробок резиновых и колпачков алюминиевых, фасовку таблеток в стерильные флаконы по 210 штук, подготовку полуавтомата для закатки алюминиевых колпачков, герметизацию флаконов резиновыми пробками и алюминиевыми колпачками. Изменение фасовки, а именно уменьшение единиц лекарственной формы до 150, 60, 30 таблеток в первичной упаковке является более удобным для производителей, поставщиков и потребителей. Для вариантов фасовки по 30 и 60 таблеток производителем предложена к применению упаковка с защитой от несанкционированного вскрытия (упаковка с контролем первого вскрытия), представляющая собой банку полимерную с крышкой.

Для обоснования возможности применения новой первичной упаковки проведены испытания ста-

бильности методом «ускоренного старения» с целью подтверждения срока годности лекарственного средства согласно ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств», действующей на момент исследования.

Перед началом испытания проводили анализ лекарственного препарата по всем показателям качества. При изучении стабильности проведена сравнительная оценка показателей качества экспериментальных серий 09, 010, 011, расфасованных в новую первичную упаковку – банки полимерные для лекарственных средств с крышкой контроля первого вскрытия по ТУ 9464-002-95202676-2011 (ФСР 2011/12301), и коммерческой серии 5, упакованной во флаконы стеклянные, закупоренные резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками в соответствии с ФСР Р N001465/01-220708.

В ходе исследований стабильности установлено, что все показатели качества экспериментальных серий 09, 010, 011 ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, выпущенных в новой первичной упаковке, соответствовали требованиям ФСР Р N001465/01-220708, изм. 1, 2. Методом ДИА ЗНЧ проведена оценка стабильности по показателю «специфическая активность» данных серий готового препарата. Установлено сохранение титров активности после ускоренного старения в новой первичной упаковке серии 09, 010, 011. Показатели специфической активности составили (1280±64) (серия 09), (1024±64) (серия 010), (1280±64) (серия 011) с «Сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной сухой для реакции агглютинации» и (1024±48) (серия 09), (640±48) (серия 010), (1024±48) (серия 011) с «Сывороткой антихолерогенной кроличьей».

Таким образом, использование новой первичной упаковки – банки полимерной с крышкой контроля первого вскрытия – не влияет на качество ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой.

Далее изучена стабильность свойств холерной вакцины в процессе хранения в течение срока годности в новой первичной упаковке и новом варианте фасовки. Сформированы экспериментальные серии вакцины 012–014 (в полимерных банках по 30 таблеток) и 015–017 (в стеклянных флаконах по 150 таблеток). Хранение образцов коммерческой серии 5 и экспериментальных серий 009–017 ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, проводили при температуре от 2 до 8 °С (ФСР Р N001465/01-220708, изм. 1, 2, проект изм. 3) в течение срока годности (3 года). Контроль свойств образцов ИЛП на соответствие требованиям ФСР Р N001465/01-220708 проводили каждые полгода в течение трех лет.

В результате исследования выявлено, что вышеприведенные виды первичных упаковок обеспечивают стабильность таких качественных показателей препарата, как внешний вид, подлинность, прочность, распадаемость, растворимость, а также количественное содержание действующего вещества. Методом ДИА ЗНЧ установлена стабильность по показателю «специфическая активность» при хранении образцов коммерческой серии 5 и экспериментальных серий 009–017 вакцины в течение срока годности.

Таким образом, в результате проведенной работы доказана стабильность свойств ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», серий 012–017, в полимерных банках и традиционной стеклянной таре (по 150 таблеток) в течение срока наблюдения (3 года). Установлено, что хранение экспериментальных серий 012–014 вакцины холерной в новой первичной упаковке не привело к изменению качества препарата в течение срока наблюдения (3 года), что согласуется с результатами теста «ускоренного старения» на примере образцов серий 09–011. Установлена возможность использования нового методического подхода на основе дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом, для мониторинга стабильности готовой лекарственной формы вакцины по показателю «специфическая активность».

Внедрена новая упаковка (пластиковые банки) и фасовка по 30, 60, 150, 210 таблеток ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая». По итогам проведенной работы внесены изменения в нормативную документацию на холерную химическую вакцину (ФСР Р N001465/01-220708, изм. № 3, Р N001465/01-030718), с 2020 г. начался выпуск вакцины в фасовке по 150 таблеток, с 2021 г. – в фасовке по 30 таблеток. В настоящее время проводится долгосрочный контроль стабильности свойств вакцины.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.
2. Горяев А.А., Саяпина Л.В., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Эффективность и безопасность вакцин для профилактики холеры. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18(1):42–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-42-49.
3. Джапаридзе М.Н., Никитина Г.П., Иванов Н.Р., Рысцова Е.А., Удалова И.Б., Караева Л.Т., Попов А.А., Наумов А.В., Коткина Т.А., Тропина Г.В., Павлова Л.П. Биохимическая и иммунохимическая характеристика новой оральной холерной бивалентной вакцины и результаты испытания препарата на добровольцах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1982; 11:29–33.

4. Сумароков А.А., Джапаридзе М.Н., Резников Ю.Б., Рысцова Е.А., Матусевич Л.Я., Никитина Г.П., Плотникова М.Н., Шустов В.Я., Королев В.В., Елисеев Ю.Ю., Дробышева Т.М., Адамова Г.В., Мелещенко М.В., Коваленко Н.М., Коткина Т.А., Громова О.В. Реактогенность и иммунологическая эффективность новой оральной холерной химической бивалентной вакцины в ограниченном контролируемом опыте ревакцинации людей. *Проблемы особо опасных инфекций*. 1993; 1-2:143–8.

5. Беланова А.И., Ковалева Е.Л., Митькина Л.И. Сравнение подходов к изучению стабильности лекарственных средств в рамках национальной процедуры в России и Евразийском экономическом союзе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021; 11(1):16–23. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23.

6. Прокопов И.А., Ковалева Е.Л., Митькина Л.И., Шаназаров К.С. Вопросы стабильности лекарственных средств, взаимосвязь с первичной упаковкой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014; 4:198–202.

7. Воробьева С.А., Дуракова О.С., Волох О.А., Громова О.В. Возможность определения специфической активности О-АГ в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. 2018; 18(3):318–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.

8. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2018; 14(4):10–3.

9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

References

1. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoyantsyna O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. [Cholera: analysis and assessment of epidemiological situation around the world and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.

2. Goryaev A.A., Sayapina L.V., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. [Efficacy and safety of vaccines for the prevention of cholera]. *BIOpreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]*. 2018; 18(1):42–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-42-49.

3. Dzharidze M.N., Nikitina G.P., Ivanov N.R., Rystsova E.A., Udalova I.B., Karaeva L.T., Popov A.A., Naumov A.V., Kotkina T.A., Tropina G.V., Pavlova L.P. [Biochemical and immunological characteristics of the new oral bivalent cholera vaccine and

the results of testing the drug on volunteers]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1982; (11):29–33.

4. Sumarokov A.A., Dzharidze M.N., Reznikov Yu.B., Rystsova E.A., Matusevich L.Ya., Nikitina G.P., Plotnikova M.N., Shustov V.Ya., Korolev V.V., Eliseev Yu.Yu., Drobysheva T.M., Adamova G.V., Meleshchenko M.V., Kovalenko N.M., Kotkina T.A., Gromova O.V. [Reactogenicity and immunological efficacy of new oral chemical bivalent cholera vaccine in a limited controlled human revaccination trial]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1993; (1-2):143–8.

5. Belanova A.I., Kovaleva E.L., Mit'kina L.I. [Comparison of approaches to studying the stability of drugs within the framework of the national procedure in Russia and the Eurasian Economic Union]. *Vedomosti Nauchnogo Tsentra Ekspertizy Sredstv Meditsinskogo Primeneniya [Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products]*. 2021; 11(1):16–23. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23.

6. Prokopov I.A., Kovaleva E.L., Mit'kina L.I., Shanazarov K.S. [Issues of drug stability, relation to primary packaging]. *Razrabotka i Registratsiya Lekarstvennykh Sredstv [Development and Registration of Medicines]*. 2014; (4):198–202.

7. Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Volokh O.A., Gromova O.V. [Possibility of determining the specific activity of O-AG in the production of cholera chemical vaccine using dot immunoassay]. *Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya [Bulletin of the Saratov University. New Series. Chemistry. Biology. Ecology Series]*. 2018; 18(3):318–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.

8. Durakova O.S., Gromova O.V., Kireev M.N., Vorob'eva S.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Volokh O.A. [Application of dot immunoassay to determine the specific activity of antigens in the production of cholera vaccine]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii im. Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after. Yu.A. Ovchinnikov]*. 2018; 14(4):10–3.

9. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Moscow; 2018.

Authors:

Gromova O.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Popova E.Z., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Shvidenko I.G., Nikiforov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Громова О.В., Воробьева С.А., Волох О.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Попова Е.З., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Швиденко И.Г., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.