

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-149-155

УДК 616.98:579.842.23

Д.А. Шаров, И.В. Дармов, И.В. Косенков, А.А. Лещенко, С.В. Багин, Д.А. Мохов,  
А.Г. Лазыкин, Е.А. Коваленко

## Оценка возможности использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой

Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), Киров, Российская Федерация

**Цель** работы – оценка возможности использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой. **Материалы и методы.** Использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Для глубинного выращивания посевной культуры чумного микроба применяли стандартный одноразовый полимерный контейнер типа Flexboy объемом 10 л фирмы Sartorius Stedim Biotech, оборудованный фильтр-капсулами Sartopore 2. Сравнение проводили с регламентной технологией получения посевных культур с использованием стеклянных бутылей объемом 20 л. Контроль полученных посевных культур вакцинного штамма EV осуществляли в соответствии с ФС.3.3.1.0022.15. Выращивание посевной культуры в одноразовом полимерном контейнере проводили в жидкой питательной среде при температуре от 26 до 28 °С с непрерывным барботажем и механическим перемешиванием с частотой от 80 до 90 колебаний в минуту. Для аэрации использовался сжатый воздух с давлением от 0,3 до 0,4 кгс/см<sup>2</sup>. Объемный расход стерильного воздуха, подаваемого на аэрацию, составлял от 0,9 до 1,0 л/мин. **Результаты и обсуждение.** Применение одноразовых полимерных контейнеров позволило сократить продолжительность технологической стадии получения посевной культуры в 1,7 раза и увеличить выход живых микробов с единицы объема питательной среды, по сравнению с регламентной, в 2,8 раза. Таким образом, показана возможность и перспективность использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой на стадии приготовления посевных культур.

**Ключевые слова:** одноразовый полимерный контейнер, вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV, производство вакцины чумной живой, стадия получения посевных культур.

Корреспондирующий автор: Лещенко Андрей Анатольевич, e-mail: 23527@mil.ru.

Для цитирования: Шаров Д.А., Дармов И.В., Косенков И.В., Лещенко А.А., Багин С.В., Мохов Д.А., Лазыкин А.Г., Коваленко Е.А. Оценка возможности использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 4:149–155. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-149-155

Поступила 26.06.2023. Отправлена на доработку 04.07.2023. Принята к публ. 26.07.2023.

D.A. Sharov, I.V. Darmov, I.V. Kosenkov, A.A. Leshchenko, S.V. Bagin, D.A. Mokhov, A.G. Lazykin, E.A. Kovalenko

## Possibility of Using Disposable Polymeric Containers in the Production Technology of Live Plague Vaccine

Affiliated Branch of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the work was to assess the possibility of using disposable polymeric containers in the production technology of the live plague vaccine. **Materials and methods.** We deployed the vaccine strain *Yersinia pestis* EV NIEG for the work. A standard disposable 10 L Flexboy type polymeric container manufactured by Sartorius Stedim Biotech, equipped with Sartopore 2 filter capsules, was used for submerged cultivation of plague microbe inoculum. This method was compared to the regulated technology for obtaining seed cultures using glass bottles with a volume of 20 liters. The control of the produced seed cultures of the vaccine strain EV was performed in accordance with FS.3.3.1.0022.15. The cultivation of the seed culture in a disposable polymeric container was carried out in a liquid nutrient medium at a temperature of 26 to 28 °C with continuous barbotage and mechanical agitation with a platform oscillation frequency of 80 to 90 per minute. For aeration, compressed air with a pressure of 0.3 to 0.4 kgf/cm<sup>2</sup> was used. The volumetric flow rate of sterile air supplied for aeration ranged from 0.9 to 1.0 l/min. **Results and discussion.** The use of disposable polymeric containers made it possible to reduce the duration of the technological stage of obtaining a seed culture by 1.7 times and increase the yield of live microbes per unit volume of the nutrient medium by 2.8 times, as compared to the regulated production technology. Thus, the possibility and prospects of using disposable polymeric containers in the production technology of live plague vaccine at the stage of preparation of sowing cultures is evidenced.

**Key words:** disposable polymeric container, *Yersinia pestis* EV vaccine strain, live plague vaccine production, stage of obtaining sowing cultures.

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

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

Corresponding author: Andrey A. Leshchenko, e-mail: 23527@mil.ru.

Citation: Sharov D.A., Darmov I.V., Kosenkov I.V., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Mokhov D.A., Lazykin A.G., Kovalenko E.A. Possibility of Using Disposable Polymeric Containers in the Production Technology of Live Plague Vaccine. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 4:149–155. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-149-155

Received 26.06.2023. Revised 04.07.2023. Accepted 26.07.2023.

Приоритетной задачей, согласно Указу Президента РФ от 2 июля 2021 г. № 400 «О Стратегии национальной безопасности Российской Федерации», является расширение производства лекарственных средств, медицинских изделий, отечественных вакцин против актуальных инфекционных болезней. Решение данной задачи требует своевременного совершенствования технологий, внедрения в них современного инновационного оборудования и материалов.

Одним из жизненно необходимых и важных лекарственных препаратов для медицинского применения является «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, ингаляций и кожного скарификационного нанесения» (Распоряжение Правительства РФ от 12 октября 2019 г. № 2406-р).

В соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации (XIV изд. Т. IV. М., 2018. С. 5342–5350), производство вакцины предусматривает технологические стадии: получения посевных культур I, II и III генераций; накопления биомассы, выращенной для приготовления вакцинной взвеси с необходимой концентрацией; розлива, замораживания, сублимационного высушивания, герметизации и упаковки препарата. Опыт выпуска вакцины чумной живой и развитие рынка биотехнологического оборудования способствовали совершенствованию основных стадий ее производства путем внедрения новых решений, направленных на повышение качества готового препарата и эффективности технологии в целом [1–4].

Процесс приготовления посевных культур является одной из основных стадий в технологии производства вакцины чумной живой, реализация которой определяет качество полуфабрикатов и готовой формы препарата. Получение посевной культуры в рамках существующей технологии осуществляется способом глубинного выращивания вакцинного штамма в жидкой питательной среде (ПС). Культивирование проводится в течение 48 ч в стеклянных бутылках вместимостью 20 л, оборудованных специальными монтажами, при постоянной аэрации согласно ПР 08461522-23-14 «Промышленный регламент на производство вакцины чумной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для инъекций, ингаляций и кожного скарификационного нанесения». Практическим недостатком использования данных решений является продолжительность подготовительных работ (до 24 ч), сопровождающихся многооперационностью и энергозатратностью. Кроме того, достаточно высоки риски получения брака продукта по причине контаминации или попадания в ПС веществ, ингибирующих рост микробов.

В современных условиях при организации асептических производств микробиологических препаратов все чаще находят применение одноразовое емкостное оборудование из инертных полимерных материалов. Простота конструкции данного оборудо-

вания, изначальная гарантированная стерильность, возможность «гибкого» встраивания в технологический процесс обеспечивают сокращение подготовительных работ и повышают защищенность продукта на этапах его производства и хранения [5–8]. В связи с этим внедрение одноразовых полимерных контейнеров в технологию производства чумной вакцины на стадии получения посевной культуры является актуальной задачей.

**Цель работы** – оценка возможности использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой.

## Материалы и методы

В экспериментальных исследованиях использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, полученный из Государственной коллекции возбудителей бактериальных инфекций, используемых для разработки и оценки эффективности медицинских средств биологической защиты, филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров).

Глубинное выращивание посевной культуры чумного микроба штамма EV осуществляли двумя способами: в соответствии с требованиями существующего регламента и с применением одноразового полимерного контейнера. Использовали жидкую ПС, приготовленную из ферментативного гидролизата мяса. Для засева использовали стабилизированную в защитной среде рабочую культуру с посевной дозой не менее 0,4 млрд м.к. на 1 мл ПС. Общую концентрацию микробов определяли по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей на 10 международных единиц (МЕ), что эквивалентно  $0,95 \cdot 10^9$  м.к./мл чумного микроба.

При реализации регламентного способа получения посевной культуры чумного микроба штамма EV культивирование проводили в стеклянных бутылках вместимостью 20 л, содержащих 10 л жидкой ПС, в течение 48 ч при температуре от 26 до 28 °C и аэрации не менее 10 л/мин (промышленный регламент ПР 08461522-23-14).

В экспериментальных исследованиях использовался стандартный одноразовый полимерный контейнер типа Flexboy объемом 10 л с коэффициентом заполнения жидкой ПС 0,5 [9]. Перемешивание осуществляли с применением орбитального термостатируемого шейкера ЛАБ-ПУ-01.

Оценку показателей качества посевной культуры проводили в соответствии с ФС.3.3.1.0022.15 «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, ингаляций и кожного скарификационного нанесения».

Материальный баланс получения посевной культуры составлялся согласно требованиям ОСТ 64-02-003-2002 «Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства.

Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения». Расчет выполняли на основании методики, представленной в практикуме по технологии лекарственных форм [10].

Все этапы исследований выполнялись в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Утилизацию одноразовых полимерных контейнеров после использования проводили, руководствуясь СанПиН 2.1.7.728-99 «Правила сбора, хранения и удаления отходов лечебно-профилактических учреждений».

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность результатов оценивали с использованием критерия Стьюдента при уровне доверительной вероятности 0,95 [11]. Кривые линии роста культуры строили с величиной достоверности аппроксимации  $R^2 \geq 0,95$ .

### Результаты и обсуждение

Для реализации экспериментальной технологии получения посевной культуры чумного микроба штамма EV оборудовали лабораторный технологический участок. На платформу орбитального термостатируемого шейкера ЛАБ-ПУ-01 вертикально устанавливали одноразовый полимерный контейнер, фиксировали пластинами, порты ориентировали перпендикулярно блоку управления. В качестве соединительных коммуникаций применяли термопластичные шланги, оборудованные пластмассовыми зажимами для перекрытия воздушных и материальных потоков. Всего смонтировали три порта: первый (3/8"×5/8"×50 см), для выхода воздуха из внутренней полости одноразового полимерного контейнера, фиксировали вертикально и оборудовали фильтр-капсулой Sartopore 2; второй (1/8"×1/4"×50 см) использовали для подачи воздуха под зеркало жидкости; третий (3/8"×5/8"×50 см) – резервный.

Воздух в одноразовый полимерный контейнер подавали под давлением, достаточным для создания скоростного напора, а также преодоления сопротивления трения и гидродинамического сопротивления столба перемешиваемой посевной культуры [12].

Оптимальный гидродинамический режим определяли по результатам изучения динамики накопления в культуре бактерий чумного микроба штамма EV. Оценивали зависимость общей концентрации микробных клеток от времени культивирования посевной культуры. Параллельно осуществляли выращивание посевной культуры в бутылках объемом 20 л (контроль).

С целью приближения к регламентным условиям экспериментальный процесс выращивания посевной культуры в одноразовом полимерном контейнере проводился в соответствии с разработанной технологической схемой, приведенной на рис. 1.

Питательную среду после холодной стерилизации с помощью фильтр-капсулы Sartopore 2 асептически вносили во внутреннюю полость одноразового полимерного контейнера в объеме 5 л, засеивали, помещали заполненный контейнер на термостатируемую платформу орбитального шейкера ЛАБ-ПУ-01 и подключали к аэрации. Культивирование осуществлялось при температуре от 26 до 28 °С, с непрерывным барботажем и механическим перемешиванием с частотой от 80 до 90 колебаний в минуту. Объемный расход стерильного воздуха, подаваемого на аэрацию, контролировали с помощью ротаметра РМ-1; величина расхода составляла от 0,9 до 1,0 л/мин. Стерильность воздуха достигалась путем применения в системе фильтр-капсулы Sartopore 2 с размером пор 0,2 мкм [13].

В экспериментальном и контрольном режимах провели по пять циклов культивирования. Результаты изучения динамики накопления чумного микроба штамма EV при культивировании в одноразовых полимерных контейнерах и бутылках вместимостью 20 л показаны на рис. 2.

Как следует из рис. 2, общая концентрация клеток при выращивании посевной культуры чумного микроба штамма EV в одноразовом полимерном контейнере более чем в 2 раза превысила таковую при культивировании в бутылках. Значение этого показателя с применением одноразового полимерного контейнера достигло максимума на 27-й час роста, тогда как регламентный процесс был продолжительнее и составил 48 ч. Длительность лаг-фазы при культивировании в регламентном режиме превышала таковую в экспериментальном на 6 ч. Фаза экспоненциального роста в регламентном режиме культивирования также являлась более продолжительной (на 12 ч), чем в экспериментальном режиме. Различия во времени накопления бактерий в культуре обусловлены особенностями гидродинамических процессов в одноразовом полимерном контейнере и бутылки. Регламентный процесс предусматривал барботажем, а экспериментальный, дополнительно, – перемешивание, что значительно улучшало турбулизацию и насыщение кислородом микробной культуры.

Орбитальные колебания способствовали эффективному течению массообменных процессов при «мягком» динамическом воздействии на механолабильные клетки посевной культуры чумного микроба штамма EV [14, 15].

По завершении выращивания оценивали качество посевной культуры, определяя следующие показатели: pH, общую концентрацию микробных клеток, количество живых микробных клеток, наличие посторонней микрофлоры.

Результаты оценки качества посевной культуры чумного микроба штамма EV, полученной в 20-литровой бутылки и одноразовом полимерном контейнере, представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 свидетельствуют о соответствии нормативным показателям качества изучаемых посев-

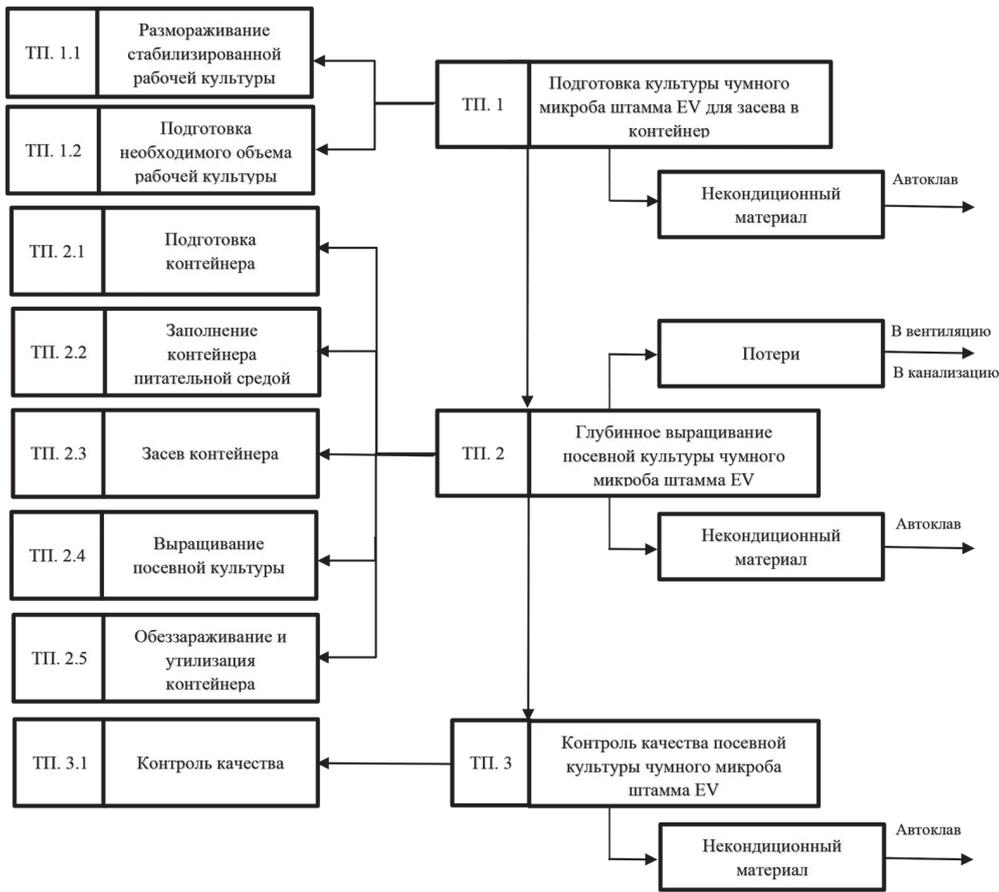


Рис. 1. Технологическая схема получения посевных культур чумного микроба штамма EV при культивировании в одноразовом полимерном контейнере

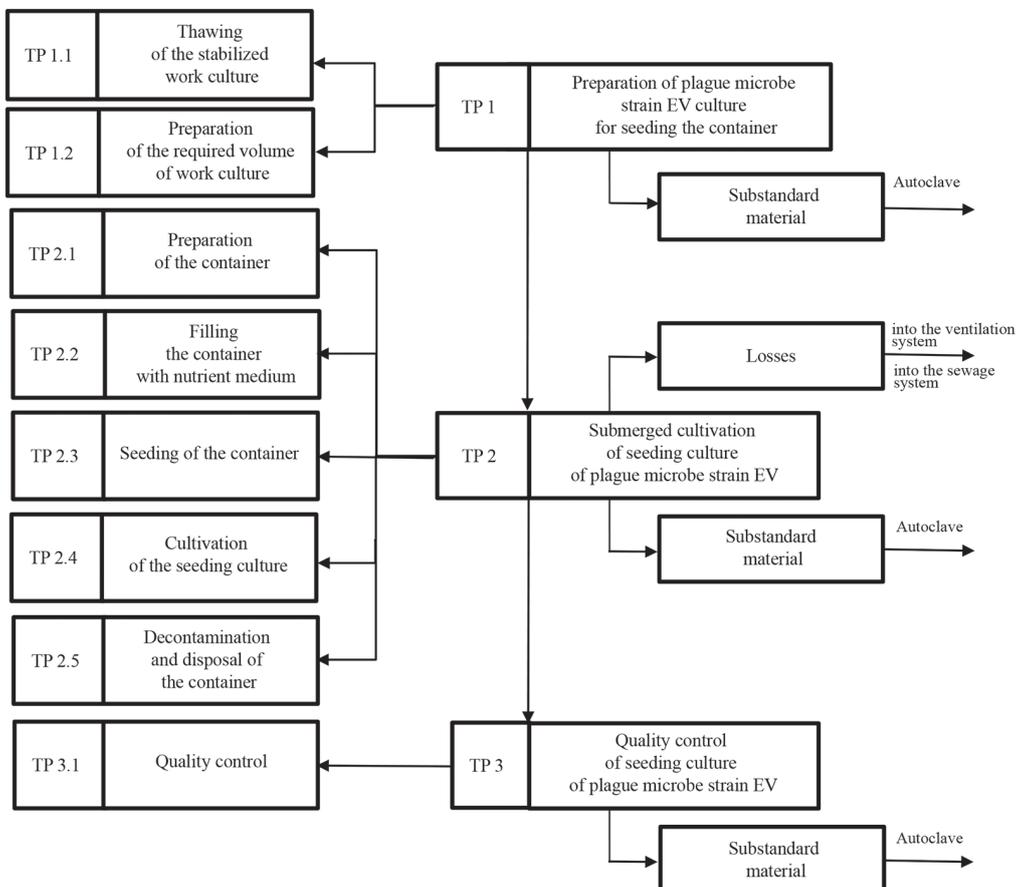


Fig. 1. Process flow diagram of cultivation seed culture of the plague microbe strain EV in disposable polymeric container

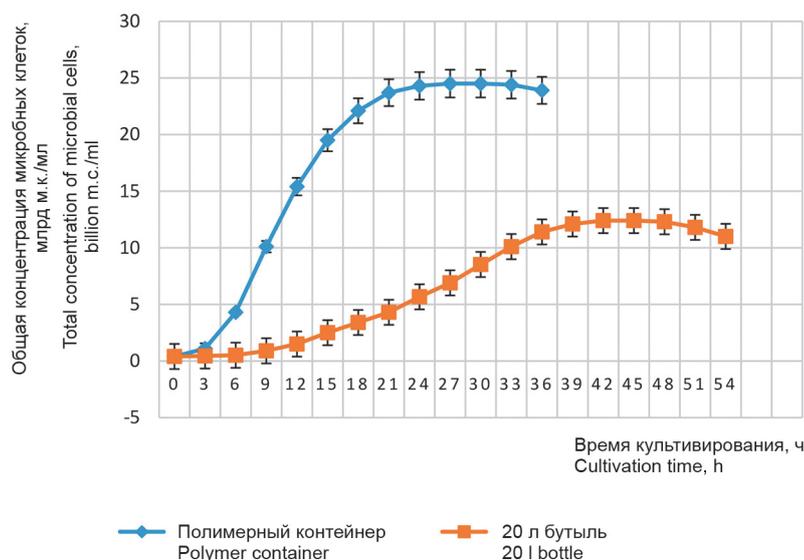


Рис. 2. Динамика накопления чумного микроба штамма EV при культивировании в одноразовых полимерных контейнерах и бутылках вместимостью 20 л ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)

Fig. 2. Dynamics of accumulation of the plague microbe strain EV during cultivation in disposable polymeric containers and bottles with a capacity of 20 l ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)

ных культур чумного микроба штамма EV, полученных как в бутылках объемом 20 л, так и в одноразовом полимерном контейнере. Значения общей концентрации микробов и количества живых микробных клеток в посевной культуре, приготовленной в одноразовом полимерном контейнере, превышали таковые при использовании бутылок объемом 20 л. В связи с тем, что объемы выращиваемой биомассы экспериментальным способом и регламентным были разными (для одноразового полимерного контейнера объем составил 5 л, для бутылки – 10 л), представлялось целесообразным оценить эффективность обоих процессов путем составления материального баланса.

Результаты сравнительной оценки материального баланса на этапе приготовления разными способами посевной культуры в производстве вакцины чумной живой представлены в табл. 2.

Как следует из табл. 2, несмотря на меньший объем посевной культуры, выращенной в одноразовом полимерном контейнере, общее содержание живых микробных клеток в данном случае больше, чем при использовании бутылки объемом 20 л, на  $18,5 \cdot 10^{12}$  ж.м.к., что составляет 29 %. Данный факт свидетельствует о том, что количества живых микробных клеток в посевной культуре, выращенной в одноразовом полимерном контейнере, достаточно для осуществления дальнейшего технологического этапа – глубинного культивирования чумного микроба штамма EV в ферментере БИОР-0,25. Применение одноразового полимерного контейнера позволило сократить продолжительность стадии получения посевной культуры в 1,7 раза и увеличить выход живых микробов с единицы объема питательной среды в 2,8 раза.

Таблица 1 / Table 1

Результаты оценки качества посевной культуры чумного микроба штамма EV, полученной различными способами ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)

The results of assessing the quality of the seed culture of the plague microbe strain EV obtained by various methods ( $\bar{X} \pm I_{95}$ , n=5)

Наименование показателя, единица измерения Indicator, unit of measure	Требования нормативной документации* Requirements of regulatory documents*	Значения показателя для посевной культуры, полученной способом ... Values of the indicator for the seeding culture obtained using the ... technology	
		регламентным regulated	экспериментальным experimental
Общая концентрация микробных клеток, млрд м.к./мл The total concentration of microbial cells, billion m.c./ml	6,0, не менее 6.0, not less	13,0±1,0	24,0±2,0
Количество живых микробных клеток, млрд ж.м.к./мл The number of living microbial cells, billion m.c./ml	3,0, не менее 3.0, not less	4,5±0,9	12,7±1,3
pH, ед. pH, units	от 7,4 до 7,9 7.4 to 7.9	7,6±0,2	7,5±0,1
Отсутствие посторонних микроорганизмов Absence of foreign microorganisms	Не должна содержать посторонних микроорганизмов Should not contain foreign microorganisms	Не содержит посторонних микроорганизмов Does not contain foreign microorganisms	

Примечание: \* ПР 08461522-23-14. Промышленный регламент на производство вакцины чумной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для инъекций, ингаляций и кожного скарификационного нанесения.

Note: \* Manufacturing specifications (master formula) 08461522-23-14. Manufacturing specifications for the production of a live plague vaccine, lyophilizate for the preparation of a suspension for injections, inhalations and skin scarification.

Таблица 2 / Table 2

Результаты сравнительной оценки материального баланса получения посевной культуры экспериментальным и регламентным способами в производстве вакцины чумной живой ( $\bar{X}$ , n=5)

The results of comparative assessment of the material balance of obtaining a seeding culture using experimental and regulated technologies in the production of live plague vaccine ( $\bar{X}$ , n=5)

Способ получения посевной культуры, продолжительность Method of obtaining a seeding culture, duration	Объем, л Volume, l	Количество живых микробных клеток, ж.м.к./мл The number of live microbial cells, live m.c./ml	Общее количество живых микробных клеток в объеме, ж.м.к. The total number of living microbial cells in the volume, live m.c.
Экспериментальный, 27 ч Experimental, 27 hours	5,0	12,7·10 <sup>9</sup>	63,5·10 <sup>12</sup>
Регламентный, 48 ч Regulated, 48 hours	10,0	4,5·10 <sup>9</sup>	45,0·10 <sup>12</sup>

Таким образом, результаты исследований показывают возможность и перспективность использования одноразовых полимерных контейнеров в технологии производства вакцины чумной живой на стадии получения посевной культуры.

**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. Микшис Н.И., Кутырев В.В. Современное состояние проблемы разработки вакцин для специфической профилактики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванов Г.Ф., Костроминов А.В., Курилова А.А. Изучение влияния экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред для глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:71–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76.
3. Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Мохов Д.А., Крупин В.В., Зиганшин А.Р. Совершенствование технологии производства вакцины чумной живой. *Вестник войск РХБ защиты*. 2017; 1(3):30–8.
4. Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.* 2016; 7:602. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00602.
5. Сравнение применения одноразовых и классических исполнений ферментеров. [Электронный ресурс]. URL: <https://biorus.ru/stati/sravnenie-primeneniya-odnorazovyix-i-klassicheskix-ispolnenij-fermenterov.html> (дата обращения 01.03.2023).
6. Jagschies G., Lindskog E., Lacki K., Galliher P.M., editors. *Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes*. Elsevier; 2017. 1308 p.
7. Junne S., Neubauer P. How scalable and suitable are single-use bioreactors? *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018; 53:240–7. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.04.003.
8. Pazmiño M.F., Terán V.A., Calderón S.J., Gaona K.V., Mihai R., Pais-Chanfrau J.M., Trujillo L.E. Single-use systems bioreactors in the biopharmaceutical industry and its use in SARS-CoV-2 candidate vaccine production – A review. *Prensa Med. Argent.* 2021. 107(6):348. DOI: 10.47275/0032-745X-348.
9. FlexboyR 2D Pre-designed solution for storage. [Электронный ресурс]. URL: <https://sartoros.ru/biotechnology/flexboy/> (дата обращения 12.03.2023).
10. Краснюк И.И., Михайлова Г.В., редакторы. *Практикум по технологии лекарственных форм*. М.: Академия; 2010. 432 с.
11. Трухачева Н.В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 384 с.
12. Goswami S., Raval K., Anjana, Bhat Pr. Recent trends in conventional and nonconventional bioprocessing. In: Sudhir P. Singh, Santosh Kumar Upadhyay, editors. *Bioprospecting of Microorganism-Based Industrial Molecules*. 2021. P. 404–17. DOI: 10.1002/9781119717317.ch20.

13. Комиссаров А.В., Морозов К.М., Перепелица А.И., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Никифоров А.К. Обеззараживание биологических аэрозолей в удаленном газе при проведении стадии ферментации биотехнологического процесса. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-6-15.
14. Сазыкин Ю.Ю., Орехов С.Н., Чакалева И.И.; Катлинский А.В. (редактор). *Биотехнология*. М.: Академия; 2014. 256 с.
15. Винаров А.Ю., Гордеев Л.С., Кухаренко А.А., Панфилов В.И.; Быков В.А. (редактор). *Процессы и аппараты биотехнологии: ферментационные аппараты*. М.: Юрайт; 2019. 274 с.

#### References

1. Mikshis N.I., Kutyrev V.V. [Current state of the problem of vaccine development for specific prophylaxis of plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. [Studying the effect of experimental bases on the growth quality of liquid nutritional media for submerged cultivation of plague microbe vaccine strain]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (1):71–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76.
3. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Ezhov A.V., Lazыкин A.G., Mokhov D.A., Krupin V.V., Ziganshin A.R. [The improvement of live plague vaccine production technology]. *[Bulletin of NBC Protection Corps]*. 2017; 1(3):30–7.
4. Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.* 2016; 7:602. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00602.
5. [Comparison of the use of disposable and conventional modifications of fermenters]. (Cited 01 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://bio-rus.ru/stati/sravnenie-primeneniya-odnorazovyix-i-klassicheskix-ispolnenij-fermenterov.html>.
6. Jagschies G., Lindskog E., Lacki K., Galliher P.M., editors. *Biopharmaceutical Processing: Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes*. Elsevier; 2017. 1308 p.
7. Junne S., Neubauer P. How scalable and suitable are single-use bioreactors? *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018; 53:240–7. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.04.003.
8. Pazmiño M.F., Terán V.A., Calderón S.J., Gaona K.V., Mihai R., Pais-Chanfrau J.M., Trujillo L.E. Single-use systems bioreactors in the biopharmaceutical industry and its use in SARS-CoV-2 candidate vaccine production – A review. *Prensa Med. Argent.* 2021. 107(6):348. DOI: 10.47275/0032-745X-348.
9. FlexboyR 2D Pre-designed solution for storage. (Cited 12 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://sartoros.ru/biotechnology/flexboy>.
10. Krasnyuk I.I., Mikhailova G.V., editors. [Workshop on the Technology of Dosage Forms]. Moscow: “Academy”; 2010. 432 p.
11. Trukhacheva N.V. [Mathematical Statistic in Biomedical Research Using the “Statistica” Software Package]. Moscow: “GEOTAR-Media”; 2013. 384 p.
12. Goswami S., Raval K., Anjana, Bhat Pr. Recent trends in conventional and nonconventional bioprocessing. In: Sudhir P. Singh, Santosh Kumar Upadhyay, editors. *Bioprospecting of Microorganism-Based Industrial Molecules*. 2021. P. 404–17. DOI: 10.1002/9781119717317.ch20.
13. Komissarov A.V., Morozov K.M., Perepelitsa A.I., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Nikiforov A.K. [Disinfection of biological aerosols in the removed gas during the fermentation stage of the biotechnological process]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*

[*Problems of Particularly Dangerous Infections*]. 2020; (4):6–15.  
DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-6-15.

14. Sazykin Yu.Yu., Orekhov S.N., Chakaleva I.I., Katlinsky A.V. (editor). *Biotechnology*. M.: “Academy”; 2014. 256 p.

15. Vinarov A.U., Gordeev L.S., Kukharenko A.A., Panfilov V.I.; Bykov V.A. (editor). [Processes and Devices of Biotechnology: Fermentation Bioreactors: Tutorial for Academic Undergraduate]. Moscow: “Urait”; 2019. 274 p.

**Authors:**

*Sharov D.A., Darmov I.V., Kosenkov I.V., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Mokhov D.A., Lazykin A.G., Kovalenko E.A.* Affiliated Branch of the “48<sup>th</sup> Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation. 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610000, Russian Federation. E-mail: 23527@mil.ru.

**Об авторах:**

*Шаров Д.А., Дармов И.В., Косенков И.В., Лещенко А.А., Багин С.В., Мохов Д.А., Лазыкин А.Г., Коваленко Е.А.* Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров). Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский проспект, 119. E-mail: 23527@mil.ru.