

А.С.Туманов¹, В.В.Тетерин¹, А.А.Лещенко¹, А.В.Ежов¹, В.В.Бирюков¹, С.В.Багин¹, Д.А.Мохов¹,
С.В.Логвинов¹, А.Г.Лазыкин¹, Д.С.Белобородов¹, В.Н.Бредихин², И.В.Поздняков²

ПУТИ СНИЖЕНИЯ КОНТАМИНАЦИИ ТАБЛЕТИРОВАННОЙ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ НА ЭТАПАХ ЕЕ ПРОИЗВОДСТВА

¹Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ, Киров, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Проблема контаминации посторонней микрофлорой таблетированных форм лекарственных средств находится, на сегодняшний день, в центре внимания исследователей, поскольку удельный вес данных медицинских препаратов на мировом рынке составляет более 60 % и имеет тенденцию к увеличению. **Целью** данной работы являлось изучение степени контаминации основного и вспомогательного сырья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, и пути ее снижения. **Материалы и методы.** В работе использовали лиофилизированную живую культуру *Yersinia pestis* вакцинного штамма EV линии НИИЭГ, а также вакцину чумную живую, таблетки для рассасывания. Проведены исследования по оценке «микробиологической чистоты» на технологических стадиях изготовления таблетированной чумной живой вакцины: измельчения, смешения, гранулирования, сушки, таблетирования. **Результаты и выводы.** Установлена динамика изменения количественного состава микрофлоры вышеуказанного препарата. Выявлено изменение уровня микробной загрязненности на отдельных технологических стадиях производства. Определена технологическая стадия с наиболее выраженной контаминацией. Анализ факторов, обуславливающих контаминацию вакцины, показал, что повышение качества готовой формы препарата невозможно без входного контроля основных и вспомогательных материалов, а также совершенствования процесса до уровня, соответствующего современному фармацевтическому производству. Экспериментально показано, что серии таблетированной чумной живой вакцины, полученные с использованием модернизированного технологического оборудования, позволили снизить контаминацию препарата в 3 раза.

Ключевые слова: вакцина, контаминация, микробиологическая чистота, сырье, таблетка, технология.

Корреспондирующий автор: Лещенко Андрей Анатольевич, e-mail: leshchenko58@mail.ru

A.S.Tumanov¹, V.V.Teterin¹, A.A.Leshchenko¹, A.V.Ezhov¹, V.V.Biryukov¹, S.V.Bagin¹, D.A.Mokhov¹,
S.V.Logvinov¹, A.G.Lazykin¹, D.S.Beloborodov¹, V.N.Bredikhin², I.V.Pozdnyakov²

Strategies for Abatement of Contamination of Tableted Live Plague Vaccine at Different Stages of Manufacturing

¹Affiliated Branch of the 48th Central Research Institute of RF Ministry of Defense, Kirov, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Nowadays, problem of tableted drug form contamination with extraneous micro-flora is in the spotlight of scientists, as the specific share of these medical preparations in the world market amounts to more than 60 % and has a tendency to increase. Thus, **objective** of the study is to investigate the degree of contamination of the basic and auxiliary raw materials at different stages of live plague vaccine manufacturing, rapid dissolving tablets, and the ways to reduce it. **Materials and methods.** Utilized has been lyophilized *Y. pestis* live culture of the vaccine strain EV NIIEG, and the live plague vaccine, rapid dissolving tablets. Carried out has been assessment of “microbiological purity” at different stages of tableted live plague vaccine manufacturing: grinding, mixing, granulation, sublimation, and palletizing. **Results and conclusions.** Identified is the dynamic pattern of quantitative micro-flora composition of the mentioned above drug. Established is the alteration of microbial impurity at separate technological manufacturing steps. Specified is the technological stage with the most expressed contamination. Analysis of factors, which affect vaccine impurity, has revealed that finished dosage-form quality improvement is impossible without incoming control of stock and auxiliary materials, as well as enhancement of manufacturing procedure up to the level, complying with applicable pharmaceutical production standards. It is experimentally proved that series of tableted live plague vaccine, obtained using modernized technological equipment, provide for 3-fold reduction of contamination.

Key words: vaccine, contamination, microbiological purity, raw materials, tablet, technology.

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

Corresponding author: Andrey A. Leshchenko, e-mail: leshchenko58@mail.ru

Citation: Tumanov A.S., Teterin V.V., Leshchenko A.A., Ezhov A.V., Biryukov V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Lazykin A.G., Beloborodov D.S., Bredikhin V.N., Pozdnyakov I.V. Strategies for Abatement of Contamination of Tableted Live Plague Vaccine at Different Stages of Manufacturing. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:102–105. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-102-105

Проблема контаминации посторонней микрофлорой таблетированных форм лекарственных средств находится на сегодняшний день в центре внимания исследователей, поскольку удельный вес этих медицинских препаратов на мировом рынке составляет более 60 % и имеет тенденцию к увеличению [12]. Кроме того, анализ данных литературы [5,

10] показал, что до 25 % ежегодно выпускаемых в РФ лекарственных средств, в форме таблеток, не соответствуют требованиям качества, предъявляемым к ним по показателю «Микробиологическая чистота».

Контроль микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств, впервые введенный в Государственной фармакопее (ГФ) XI издания 1992 г.,

дополненный с учетом требований к их качеству в 2002 г. [2] и включенный в ГФ XII издания [3], является фактором, обеспечивающим безвредность медицинских препаратов, и заключается в количественном определении жизнеспособных бактерий и грибов, а также выявлении определенных видов микроорганизмов, наличие которых в препарате недопустимо.

К числу препаратов, контаминируемых посторонними микроорганизмами в процессе производства, можно отнести и таблетированные вакцинные препараты, в том числе вакцину чумную живую в виде таблеток для рассасывания, так как условия их получения в большинстве случаев не гарантируют микробиологическую чистоту последних. Микроорганизмы, наличие которых недопустимо в таких препаратах, могут вноситься с сырьем, технологическим воздухом и водой на этапах изготовления и хранения гранулята, а также в процессе таблетирования, во время фасовки и упаковки готовой вакцины [4].

Целью данной работы явилась оценка степени контаминации основного и вспомогательного сырья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, и пути ее снижения.

Материалы и методы

В работе использовали лиофилизированную живую культуру *Yersinia pestis* вакцинного штамма EV линии НИИЭГ (сухую вакцину) ФСП 42-8198-06, а также вакцину чумную живую, таблетки для рассасывания.

Вспомогательным сырьем (наполнитель вакцины) служили: крахмал картофельный (ГОСТ Р 53876-10); глюкоза (ГФ X, ст. 311); сахарин (ГФ IX, ст. 424, ФСП 42-8198-06); ванилин (ГОСТ 16599-71); ментол (ГФ X, ст. 387); какао порошок (ГОСТ 108-76); кальция стеарат (ТУ 6-09-4233-76).

Оценку микробиологической чистоты готовой формы вакцины и вспомогательного сырья проводили в соответствии с методами, изложенными в разделе «Микробиологическая чистота» (ОФС 42-0067-07) ГФ XII издания [3], и согласно ФСП 42-8198-06 «Вакцина чумная живая, таблетки для рассасывания».

Статистическую обработку результатов экспериментальных данных производили в соответствии с рекомендациями [6].

Результаты и обсуждение

Процесс получения таблетированных форм препаратов, в том числе вакцины чумной живой в виде таблеток для рассасывания, включает значительное количество последовательных операций (рисунок), начиная с обработки исходного лекарственного вещества (биокомпонента) или его смесей, вспомогательных материалов, и состоит из нескольких последовательных стадий: измельчения, смешения, гранулирования, сушки, таблетирования, фасовки и упаковки [1, 11].

Поэтому для оценки степени контаминации основного (биокомпонента) и вспомогательного сы-



Технологическая схема получения таблетированной формы биопрепарата

рья на этапах приготовления вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания проводились исследования микробиологической чистоты на каждой технологической стадии. Результаты экспериментального изучения представлены в табл. 1.

Анализ экспериментальных данных, представленных в табл. 1, показывает, что в большей степени контаминации подвержен гранулят таблеточной смеси, в состав которого входит сырье растительного происхождения: картофельный крахмал, какао порошок, глюкоза и сахарин. Резкому снижению содержания микроорганизмов в грануляте способствует стерилизация этих компонентов и использование в качестве увлажнителя дистиллированной воды. Кроме того, снижению микробной контаминации в картофельном крахмале способствует высокая (90–100 °С) температура при приготовлении крахмального клейстера, необходимого для получения влажного гранулята.

В другой группе вспомогательных веществ – ванилине и ментоле – не выявлено контаминирующей микрофлоры. Ее отсутствие, вероятно, связано с природой этих веществ, представляющих собой антисептические средства.

Необходимо отметить, что лиофильно высушенная культура *Y. pestis* штамма EV не содержит посторонней микрофлоры, что объясняется тщательным выполнением подготовительных работ и соблюдением асептики на всех стадиях ее приготовления [9]. В то же время осуществление последующих технологических стадий изготовления вакцины, как следует из табл. 2, приводит к неизбежной контаминации го-

Таблица 1

Количество микроорганизмов в образцах основного и вспомогательного сырья (n=5)

Наименование основного и вспомогательного сырья	Количество микроорганизмов, КОЕ в грамме	
	Аэробные бактерии	Грибы
Лиофильно высушенная культура <i>Y. pestis</i> штамма EV	0	0
Крахмал картофельный	800 ± 126	121 ± 9
Глюкоза	Менее 10	0
Сахарин	Менее 10	0
Ванилин	0	0
Ментол	0	0
Какао порошок	1016 ± 119	213 ± 17
Кальция стеарат	0	0

Таблица 2

Характеристика вакцины чумной живой, таблеток для рассасывания, по показателю «микробиологическая чистота» (n=9)

Наименование показателя	Требования нормативной документации [3]	Результаты оценки вакцины
Микробиологическая чистота	Таблетка может содержать: не более $1 \cdot 10^3$ м.к. непатогенных микроорганизмов	167 ± 12
	Таблетка может содержать: не более $1 \cdot 10^2$ грибов	27 ± 4

тогового биопрепарата.

В ходе проведения дальнейших постадийных исследований технологического процесса получения вакцины чумной живой сухой в виде таблеток для рассасывания установлена динамика изменения количественного состава микрофлоры вышеуказанного препарата. Отмечено изменение уровня микробной загрязненности на отдельных этапах производства. В частности, наиболее выраженная контаминация аэробными бактериями наблюдалась на стадии измельчения гранулята и таблеточной массы в помольной камере струйной мельницы с последующим ее снижением на стадии прессования. Последнее соответствует данным литературы [7], согласно которым на этапе таблетирования происходит уменьшение числа спорных бактерий – от 5 до 10 %; вегетативных клеток – от 10 до 30 %; грибов – от 20 до 55 %. Кроме того, стеарат кальция, вводимый в таблеточную смесь на стадии прессования как скользящее вещество, имеет меньшую микробную обсемененность по сравнению с компонентами гранулята, что является дополнительным фактором снижения уровня контаминации готового препарата. На этапе фасовки препарата микробная контаминация минимальна, так как фасовка вакцины осуществляется в стерильную тару с соблюдением требований асептики в боксах с ламинарным потоком стерильного воздуха. Следовательно, единственным этапом технологического процесса, который принято считать фактором риска, является этап измельчения гранулята и таблеточной массы в помольной камере струйной мельницы, где повышение уровня контаминации связано с подачей нестерильного технического воздуха.

Снижение микробной контаминации на данной технологической стадии достигается путем модернизации – установкой дополнительных фильтров тонкой очистки в системе подачи сжатого воздуха к соплам и эжектору помольной камеры струйной мельницы.

Экспериментальные серии гранулята и таблеточной массы, полученные с использованием модернизированной струйной мельницы, позволили снизить контаминацию вакцины аэробными бактериями и грибами в 3 раза.

Анализ факторов, обуславливающих контаминацию таблетированной чумной вакцины в процессе ее производства, показал, что повышение качества готовой формы препарата невозможно без входного контроля основных и вспомогательных материалов, а

также совершенствования технологического процесса до уровня, соответствующего современному фармацевтическому производству [8]. Иными словами, необходим комплексный подход к решению вопроса снижения путей микробиологической загрязненности таблетированной чумной живой вакцины и аналогичных таблетированных вакцинных препаратов.

Таким образом, для повышения качества готовой таблетированной чумной живой вакцины по показателю «микробиологическая чистота» необходимо проведение ряда мероприятий. Они связаны с улучшением санитарно-гигиенической культуры производства, подготовкой технологического оборудования, разработкой и внедрением современных средств и методов микробной деконтаминации лекарственных препаратов, сырья и вспомогательных материалов. Следует подчеркнуть, что проблемы микробиологического контроля и защиты таблетированных вакцин от контаминации необходимо решать в комплексе с разработкой технологических схем получения препаратов и проектирования вакцинных производств.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. М.: КолосС; 2004. 296 с.
2. Государственная фармакопея СССР. XI изд., вып. 2. М.: 1990. 400 с.
3. Государственная фармакопея РФ. XII изд., ч. 1. М.: Изд. НЦ ЭСМП; 2008. 704 с.
4. Загоскина Н.В., Назаренко Л.В., Калашникова Е.А., Живухина Е.А. Биотехнология: теория и практика. М.: Оникс; 2009. 496 с.
5. Каламова Н.И., Каграманова К.А., Багирова В.Л., Ковалева Е.Л., Стародумова М.В. Методы микробиологического контроля лекарственных средств (изменение № 2 к общей статье государственной фармакопеи XI издания). *Химико-фармацевт. журн.* 2001; 12:34–5.
6. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа; 1990. 351 с.
7. Лещенко А.А., Тетерин В.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Мохов Д.А., Бирюков В.В., Багин С.В., Логвинов С.В. Экспериментальное обоснование возможности получения концентрата микробных клеток *Y. pestis* штамма EV методом микрофльтрации. *Биопрепараты.* 2014; 1:31–6.
8. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. ГОСТ Р 52249-2009. М.: Стандартинформ; 2009. 139 с.
9. Тетерин В.В., Ежов А.В., Бирюков В.В., Мохов Д.А., Багин С.В., Хонин А.З., Логвинов С.В. Способ получения чумных вакцин. Патент РФ 2510825, опубл. 10.04.2014. Бюл. № 10.
10. Хабриев Р.У., Ягудина Р.И. Анализ состояния качества отечественных лекарственных средств. *Химико-фармацевт. журн.* 2003; 8:41–3.
11. Швецов С.А., Черкасов Н.А., Ежов А.В., Багин С.В., Тетерин В.В., Мохов Д.А. Математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины. *Биомедицина.* 2011; 1:64–71.
12. Шуб Т.А., Каграманова К.А., Кивман Г.Я., Бухарцева Е.В., Гунар О.В., Николаенко Н.С. Пути контаминации нестерильных лекарственных средств. *Химико-фармацевт. журн.* 1991; 12:55–6.

References

1. Biryukov V.V. [Fundamental Principles of Industrial Biotechnology]. M.: "Koloss"; 2004. 296 p.
2. USSR State Pharmacopoeia. XI Edition, Issue 2. M.; 1990.
3. RF State Pharmacopoeia. XII Edition, Part 1. M.; 2008.
4. Zagoskina N.V., Nazarenko L.V., Kalashnikova E.A., Zhivukhina E.A. [Biotechnology: Theory and Practice]. M.: "Oniks"; 2009. 496 p.
5. Kalamova N.I., Kagramanova K.A., Bagirova V.L., Kovaleva E.L., Starodumova M.V. [Methods of microbiological pharmaceutical product control (Amendment 2 to State Pharmacopoeia Article, XI Edition)]. *Khim.*

Pharmats. Zh. 2001; 12:34–5.

6. Lakin G.F. [Biometry]. M.: 1990. 315 p.

7. Leshchenko A.A., Teterin V.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Mokhov D.A., Biryukov V.V., Bagin S.V., Logvinov S.V. [Experimental substantiation of the feasibility to produce *Y. pestis* microbe cells (EV strain) concentrate using microfiltration]. *Biopreparaty*. 2014; 1:32–8.

8. [Drug Manufacturing Process Management and Quality Control Rules. Good Manufacturing Practices. Russian National Standard 52249-2009]. M.: Standartinform; 2009. 139 p.

9. Teterin V.V., Ezhov A.V., Biryukov V.V., Mokhov D.A., Bagin S.V., Khonin A.Z., Logvinov S.V. [Method for the production of plague vaccines]. RF Patent 2510825, 10.09.2013.

10. Khabriev R.U., Yagudina R.I. [Evaluation of the quality assurance status of domestic pharmaceutical products]. *Khim. Farmatsevt. Zh.* 2003; 8:41–3.

11. Shvetsov S.A., Cherkasov N.A., Ezhov A.V., Bagin S.V., Teterin V.V., Mokhov D.A. [Mathematical modeling of manufacturing process for the production of tableted live plague vaccine]. *Biomeditsina*. 2011; 1:64–71.

12. Shub T.A., Kagramanova K.A., Kivman G.Ya., Bukhartseva E.V., Gunar O.V., Nikolaenko N.S. [Ways of contamination of non-sterile pharmaceutical products]. *Khim. Farmatsevt. Zh.* 1991; 12:55–6.

V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Lazykin A.G., Beloborodov D.S. Affiliated Branch of the 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense. 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610000, Russian Federation.

Bredikhin V.N., Pozdnyakov I.V. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru

Об авторах:

Туманов А.С., Тетерин В.В., Лещенко А.А., Ежов А.В., Бирюков В.В., Багин С.В., Мохов Д.А., Логвинов С.В., Лазыкин А.Г., Белобородов Д.С. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский пр-т, 119.

Бредихин В.Н., Поздняков И.В. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru

Поступила 22.08.14.

Authors:

Tumanov A.S., Teterin V.V., Leshchenko A.A., Ezhov A.V., Biryukov