

Л.В.Саяпина¹, И.И.Хорева², Н.П.Байдалова², А.А.Горяев¹, Д.С.Давыдов¹, В.Б.Поступайло¹,
В.А.Меркулов¹

ОЦЕНКА ОСТАТОЧНОЙ ВИРУЛЕНТНОСТИ ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* 15 НИИЭГ ПО ДАННЫМ МНОГОЛЕТНИХ НАБЛЮДЕНИЙ

¹ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», Москва, Российская Федерация;

²АО Научное производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген»,
Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Изучение и анализ многолетних данных ежегодного контроля остаточной вирулентности вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ для уточнения нормы показателя и внесения изменений в нормативную документацию. **Материалы и методы.** В работе использовано восемь ампул с лиофилизированными культурами вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003, 2012 и 2013 гг., изготовленными на различных площадках производства. Для получения более полной информации по остаточной вирулентности штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ проведен анализ паспортов контроля качества 76 лиофилизированных культур в ампулах, из них 48 – изготовленны на базах Одесского ППБП в 1980, 1987 и 1990 гг., и 28 – в ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, (Омское ППБП) в 2003–2013 гг. **Результаты и обсуждения.** В результате проведенной работы выявлено, что из восьми изученных культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ различных лет лиофилизации семь культур имели остаточную вирулентность в пределах от $1 \cdot 10^2$ до $2,5 \cdot 10^2$ м.к., LD₅₀ штамма 1966 г. лиофилизации составила $7,3 \cdot 10^5$ м.к. (норма $1 \cdot 10^2$ – $2 \cdot 10^6$ м.к.). Полученные в ходе анализа паспортов контроля качества вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, хранившегося в лиофилизированном состоянии в период с 1987 по 2013 год при температуре минус $(19 \pm 1)^\circ\text{C}$, данные показали, что остаточная вирулентность стабильна в пределах регламентированных требований. В нормативную документацию внесено изменение нормы показателя «Остаточная вирулентность» в пределах от $1 \cdot 10^2$ до $5 \cdot 10^3$ м.к.

Ключевые слова: вакцинный штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ, остаточная вирулентность, анализ паспортов оценки качества.

Корреспондирующий автор: Саяпина Лидия Васильевна, e-mail: Sayapina@expmed.ru.

L.V.Sayapina¹, I.I.Khoreva², N.P.Baidalova², A.A.Goryaev¹, D.S.Davydov¹, V.B.Postupailo¹, V.A.Merkulov¹

Assessment of Residual Virulence of *Francisella tularensis* 15 NIEG Vaccine Strain Based on Long-Term Observations

¹Scientific Center on Expertise of Medical Application Products, Moscow, Russian Federation; ²Joint Stock Company Scientific Production Association on Medical Immunobiological Preparations “Microgen”, Moscow, Russian Federation

Objective of the study is to assess and analyze the long-term data on annual control of residual virulence of *Francisella tularensis* 15 NIEG vaccine strain for clarifying the value of the parameter and amending the regulatory documentation. **Materials and methods.** Utilized were 8 vials containing lyophilized cultures of vaccine strain *F. tularensis* 15 NIEG dated 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003, 2012, and 2013, manufactured at different industrial sites. To gather additional information on residual virulence of *F. tularensis* 15 NIEG strain, evaluation of quality control files of 76 lyophilized cultures in vials was performed, out of which 48 strains manufactured at the premises of Odessa Bacterial Products Enterprise in 1980, 1987, and 1990, and 28 – at Joint Stock Company Scientific Production Association on Medical Immunobiological Preparations “Microgen”, Omsk Bacterial Products Enterprise, in 2003–2013. **Results and discussion.** Assessment of the parameter has revealed that out of 8 tested cultures of *F. tularensis* 15 NIEG strain of various date of lyophilization 7 cultures have virulence rate ranging within $1 \cdot 10^2$ – $2.5 \cdot 10^2$ mc, LD₅₀ of the strain dated 1966 is $7.3 \cdot 10^5$ mc (the standard range $1 \cdot 10^2$ – $2 \cdot 10^6$ mc). Obtained in the course of analysis of quality control files on *F. tularensis* 15 NIEG strain, stored in lyophilized form at $(19 \pm 1)^\circ\text{C}$, data demonstrate that residual virulence stays within the specified limits. Amendments regarding the value of “Residual virulence” parameter have been introduced into the regulatory documentation, the level ranging within $1 \cdot 10^2$ – $5 \cdot 10^3$ mc.

Key words: *Francisella tularensis* 15 NIEG vaccine strain, residual virulence, analysis of quality control files.

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

Corresponding author: Lidiya V. Sayapina, e-mail: Sayapina@expmed.ru.

Citation: Sayapina L.V., Khoreva I.I., Baidalova N.P., Goryaev A.A., Davydov D.S., Postupailo V.B., Merkulov V.A. Assessment of Residual Virulence of *Francisella tularensis* 15 NIEG Vaccine Strain Based on Long-Term Observations. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 1:98–102. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-98-102

Достигнутые успехи в борьбе с туляремией связаны с широким применением в России вакцины туляремийной живой, разработанной в начале 40-х годов прошлого столетия, и по сей день являющейся эффективным профилактическим средством [2, 3, 8]. С 60-х годов и по настоящее время

вакцину туляремийную изготавливают на основе штамма *F. tularensis* № 15 НИИЭГ, полученного путем десятикратного пассирования культуры штамма *F. tularensis* № 15 (восстановленного) через организм морской свинки [4].

Известно, что эффективность живых вакцин обе-

спечивается стабильностью и высокой иммуногенной активностью вакцинного штамма. Рекомендации ВОЗ относительно общих требований к качеству вакцин касаются, прежде всего, их безопасности и специфической активности [11]. Подобный подход реализован при разработке критериев оценки качества туляреминой вакцины Н.Г.Олсуфьевым. Многочисленными исследованиями показано, что основной оценкой иммунобиологических свойств вакцинного штамма является определение остаточной вирулентности (LD_{50}), имеющей большое значение для своевременного выявления изменения иммуногенности производственного штамма [5, 6, 9]. В свое время еще Н.А.Гайский придавал особое значение остаточной вирулентности вакцинных штаммов, считая, что иммуногенным является тот штамм, который сохранил остаточную вирулентность для белых мышей, но остался безвредным для морских свинок и человека [1].

Вакциной, приготовленной из штамма *F. tularensis* 15, до 1960 г. было привито более 60 млн человек. Однако данный штамм оказался нестабильным, в процессе хранения несколько раз снижал остаточную вирулентность и, как следствие, иммуногенность. Для исправления создавшегося положения проводились работы по его восстановлению, а также разрабатывались новые штаммы, соответствующие требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам [5, 10].

Л.В.Сиротюк проведены сравнительные испытания штаммов *F. tularensis* 15, *F. tularensis* 15 НИИЭГ (восстановленный), *F. tularensis* 15/Кб, *F. tularensis* 33, *F. tularensis* 53, имеющих различную степень иммуногенной активности и в разные годы использующихся в производстве туляреминой вакцины. В ходе исследований обнаружены существенные различия изучаемых штаммов по степени остаточной вирулентности. Выявлено, что высокоиммуногенные штаммы при подкожном введении белым мышам доз от 100 до 1 млн м.к., вызывали гибель от 56 до 91 % животных, что значительно превышало ранее установленную норму (от 30 до 50 %). При этом введение белым мышам слабоиммуногенных штаммов сопровождалось гибелью от 11 до 30 % животных. Вместе с тем все штаммы были безвредными (вызывали одинаковое допустимое падение веса) для морских свинок при подкожном введении больших доз (15 и $25 \cdot 10^9$ м.к.) в течение 15 сут (срок наблюдения).

Анализ полученных данных по изучению иммунобиологических свойств предложенных штаммов позволил определить наиболее иммуногенные и безопасные штаммы, а также возможность их использования в производстве живой туляреминой вакцины [7]. Основываясь на полученных результатах, установлена норма показателя «Остаточная вирулентность» в пределах от 100 до 2 млн м.к., при этом гибель белых мышей должна составлять от 70 до 80 %.

Позднее Н.Г.Олсуфьевым и соавт. (1971 г.) в расширенных комиссионных исследованиях у вакцинированных людей изучена иммунологическая активность и реактогенность туляреминых вакцин, полученных на основе предложенных исследователями новых вакцинных штаммов. Установлено, что в организме людей при вакцинации живыми туляремиными вакцинами развивались строго специфические прививочные реакции. Однако из всех изученных туляреминых вакцин наиболее иммуногенным оказался препарат, изготовленный из штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Полученные данные, свидетельствующие о его высокой иммуногенности и умеренной реактогенности, явились основанием для решения вопроса об использовании штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ в производстве туляреминой вакцины. Учитывая не равноценность вакцинных штаммов по остаточной вирулентности, колеблющейся в достаточно широком диапазоне, принято решение оставить норму показателя в установленных пределах от $1 \cdot 10^2$ до $2 \cdot 10^6$ м.к. и включить в нормативную документацию [5].

Несмотря на многочисленные исследования по разработке туляреминых штаммов, кандидатов в вакцинные, на протяжении многих лет штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ остается единственным, используемым в производстве туляреминой вакцины. Но за последние 30 лет накопились данные, позволяющие пересмотреть норму верхней границы ($2 \cdot 10^6$ м.к.) показателя остаточной вирулентности для высокоиммуногенного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ в сторону уменьшения. Данное решение также согласуется с рекомендациями ВОЗ об ограничении использования животных при контроле иммунобиологических препаратов.

Целью настоящего исследования явилось изучение и анализ многолетних данных ежегодного контроля остаточной вирулентности вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ для уточнения нормы показателя и внесения изменений в нормативную документацию.

Материалы и методы

Для получения информации по остаточной вирулентности штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ проведен анализ паспортов контроля качества 76 лиофилизированных в ампулах культур, из них 48 – изготовлены на базе Одесского предприятия производства бактериальных препаратов (Одесское ППБП) в 1980, 1987 и 1990 гг., и 28 – на производственной площадке ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России филиале г. Омск «Омское предприятие по производству бактериальных препаратов» (Омское ППБП) в 2003–2013 гг.

Проанализированы паспортные данные иммунобиологических свойств (остаточная вирулентность, специфическая безопасность, иммуногенность и прививаемость) вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ за период с 1987 по 2013 год, хранившегося

при температуре минус $(19 \pm 1)^\circ\text{C}$ в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (ГКПМ) III–IV групп патогенности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (ГИСК им. Л.А.Тарасевича).

Помимо этого в работе использовано восемь ампул с лиофилизированными коллекционными культурами штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ 1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003, 2012 и 2013 гг., изготовленными на различных площадках производства. Иммунобиологические свойства вакцинного штамма изучали в соответствии с требованиями, изложенными в Промышленном регламенте на производство препарата «Вакцина туляремия живая». В ходе анализа остаточную вирулентность штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ оценивали перед началом каждого производственного цикла (один раз в год) в специализированной лаборатории ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России) и ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России (Омское ППБП) в 2003 и 2013 гг.

Руководствуясь требованиями, предъявляемыми к вакцинному штамму, контроль вновь приготовленной серии вакцинного штамма (срок годности 10 лет), в том числе остаточную вирулентность, определяли в специализированной лаборатории туляремии ФГБУ НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи Минздрава России.

Исследуемые культуры вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ культивировали на плотных питательных средах Мак-Коя лабораторного приготовления или Ft-агаре при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. Стандартные суспензии клеток штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ готовили в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида с использованием ОСО мутности бактериальных взвесей 10 МЕ, что эквивалентно $5 \cdot 10^9$ м.к./мл.

Остаточная вирулентность вакцинного штамма изучалась на белых мышах инбредных линий обоего пола (масса 18–20 г). Использование белых мышей для определения остаточной вирулентности связано с их высокой чувствительностью даже к штаммам с ослабленной вирулентностью. По 10 белых мышей иммунизировали подкожно штаммом *F. tularensis* 15 НИИЭГ дозами от 5 до $5 \cdot 10^6$ м.к. в объеме 0,5 мл. Для подсчета LD_{50} и расчета вводимых доз проводили высеив культуры из разведения 10^{-6} м.к. по 0,1 мл на три чашки Петри с питательной средой Ft-агар.

Гибель мышей учитывали в течение до 21 сут после введения культуры. За животными наблюдали от 3 до 21 сут. Животных, павших до 10 сут, вскрывали, обращали внимание на патоморфологические изменения органов, асептично извлекали селезенку и производили ее посев методом отпечатка на питательные среды Мак-Коя или FT-агар. Посевы инкубировали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 10 сут.

Для установления причин гибели животных культуру штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, выросшую в посевах селезенки, идентифицировали в РИФ (ре-

акции прямой иммунофлуоресценции) с помощью иммуноглобулинов туляремиальных диагностических флуоресцирующих.

Гибель мышей от испытываемого штамма устанавливали на основании патологоанатомических данных вскрытия (плотный инфильтрат на месте введения, гиперемия сосудов подкожной клетчатки и паховых лимфатических узлов, увеличение и уплотнение селезенки) и выделения из посевов туляремиального микроба.

Определение LD_{50} , а также доверительных интервалов (для вероятности 95 %) проводили согласно методу Кербера в модификации И.П.Ашмарина и А.А.Воробьева (1962 г.), используя для расчетов формулу:

$$\lg LD_{50} = \lg D - 1 (\Sigma Li - 0,5),$$

где D – максимальная из испытанных доз; Li – отношение числа животных, павших при введении данной дозы к общему числу животных, которым эта доза была введена; ΣLi – сумма значений Li , вычисленных для всех испытанных доз.

Иммуногенность, прививаемость и специфическая безопасность оценивались на морских свинках массой (250 ± 50) г и (400 ± 50) г.

Результаты и обсуждение

Производство вакцины туляремиальной живой на двух производственных площадках (Омское и Одесское ППБП) было разрешено в 1963 г. Приказом министра МЗ РСФСР. При этом получение вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, использовавшегося в Российской Федерации для производства вакцины туляремиальной до 2003 г., было возложено на Одесское ППБП. По истечению срока годности в 2003 и 2013 гг. очередные серии вакцинного штамма изготовлены на базе Омского ППБП.

Необходимо отметить, что вакцинные штаммы туляремиального микроба, использующиеся в разные годы для производства вакцины туляремиальной живой, в том числе и штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ, хранятся в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (ГКПМ) III–IV групп патогенности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (ГИСК им. Л.А.Тарасевича).

На первом этапе работы использовали культуры восьми штаммов *F. tularensis* 15 НИИЭГ различных лет лиофилизации (1953, 1966, 1969, 1987, 1990, 2003, 2012 и 2013 гг.). При определении остаточной вирулентности, в первую очередь, учитывали гибель белых мышей в течение 5–10 сут после введения культуры, которая в среднем составляла от 50 до 70 %. Проведенными исследованиями установлено, что семь культур вакцинного штамма имели остаточную вирулентность в пределах от 1 до $2,5 \cdot 10^2$ м.к. (норма $1 \cdot 10^2$ – $2 \cdot 10^6$ м.к.). Существенные различия по степени остаточной вирулентности для белых мышей обнаружены у штамма 1966 г. лиофилизации, LD_{50} которого составила $7,3 \cdot 10^5$ м.к. Изучение пато-

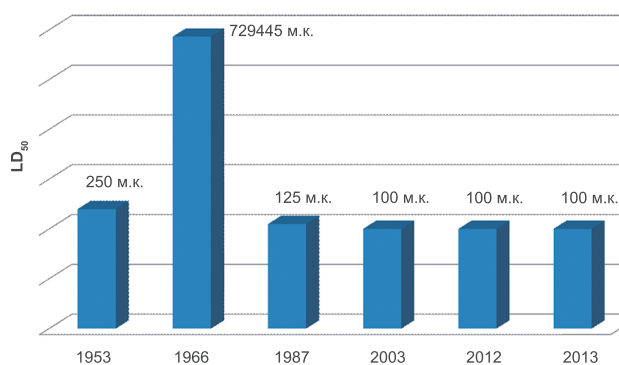


Рис. 1. Результаты определения LD₅₀ культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ разных лет лиофилизации по данным ГИСК им. Л.А.Тарасевича

морфологических изменений в организме животных показало, что наибольшие изменения в виде плотного инфильтрата на месте введения, гиперемии сосудов подкожной клетчатки и лимфатических узлов, а также увеличения и уплотнения печени и селезенки наблюдали при введении культуры штамма, содержащей высокие дозы, за исключением штамма 1966 г. лиофилизации. Патоморфологические изменения в органах животных при введении как низких, так и высоких доз данного штамма были менее выражены. Выявленное значительное увеличение показателя остаточной вирулентности у одного из исследуемых штаммов, в который раз подтверждает ранее установленный факт, что лиофилизация не предохраняет штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ от изменения его первоначальной остаточной вирулентности при длительном хранении [6].

Полученные данные (рис. 1) свидетельствуют о том, что LD₅₀ у изученных культур вакцинного штамма, кроме штамма 1966 г., не имела достоверных отличий и соответствовала установленным требованиям, предъявляемым к вакцинному штамму. Помимо этого оценка остаточной вирулентности вакцинного штамма, хранившегося в коллекции ГКПМ, проводилась по паспортным данным, полученным за период 1987–2013 гг. на двух базах (специализированная лаборатория и Омское ППБП).

С 1987 по 2002 год анализ данных ежегодного определения остаточной вирулентности проводился у культур вакцинного штамма, лиофилизированного

на базе Одесского ППБП, а с 2003 по 2013 год – на базе ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России (Омское ППБП). Как видно из представленных материалов (рис. 2), различия в показателе «Остаточная вирулентность» выявлены в 1995 и 2008 гг., при этом в Омском ППБП LD₅₀ составила $1 \cdot 10^3$ м.к., что в пять раз выше данных, полученных в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России ($2 \cdot 10^2$ м.к.).

В 1997 г. более высокая остаточная вирулентность вакцинного штамма проявилась при проведении контроля в специализированной лаборатории ГИСК им. Л.А.Тарасевича. Вместе с тем полученные результаты укладывались в регламентирующие требования, согласно которым LD₅₀ штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ должна иметь значения от $1 \cdot 10^2$ до $2 \cdot 10^6$ м.к. Выявленное расхождение в показателе «Остаточная вирулентность» на двух производственных площадках в 1995, 1997 и 2008 гг. можно объяснить использованием не стандартного поголовья лабораторных животных или возможной погрешностью в концентрации микробной взвеси при разведении культуры вакцинного штамма.

Анализ данных изменения LD₅₀ вакцинного штамма одного и того же года лиофилизации показал, что результаты, полученные на базе специализированной лаборатории (от 1 до $2,5 \cdot 10^2$ м.к.), зачастую были сравнимы с данными, полученными за тот же год на базе Омского ППБП ($1,58$ до $5 \cdot 10^2$ м.к.).

Резюмируя выше изложенное, можно сделать заключение о том, что за указанный период времени (с 1987 по 2013 год) показатель «Остаточная вирулентность» имел достаточно стабильное значение, который находился в пределах от $1 \cdot 10^2$ до $4 \cdot 10^2$ м.к. и не превышал более $1 \cdot 10^3$ м.к. При этом статистически различий ($p(F)=0,25$ при $\alpha=0,95\%$), независимо от места проведения исследований, не получено.

Проведенный ретроспективный анализ паспортных данных и протоколов ежегодного контроля специфической безопасности, иммуногенной активности и прививаемости вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ за период с 1987 по 2013 год на производственных площадках предприятий производителя и специализированной лаборатории позволил установить, что штамм был безвреден при кожном нанесении на депилированный участок кожи морских

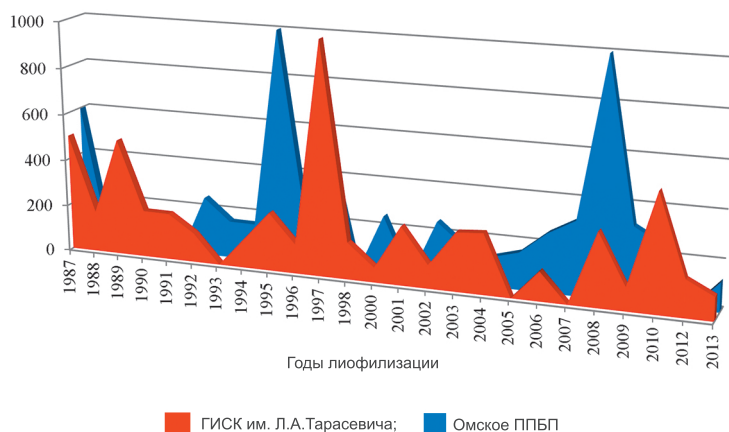


Рис. 2. Результаты определения LD₅₀ культур штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ разных лет лиофилизации по данным ГИСК им. Л.А.Тарасевича и филиала НПО «Микроген», Омское ППБП

свинок доз $5 \cdot 10^6$ и $5 \cdot 10^7$ м.к./мл, вызывал умеренно выраженную прививочную реакцию размером от 5 до 10 мм (норма от 5 до 15 мм); иммуногенность исследуемых культур разных лет лиофилизации и хранения была в пределах от 25 до $2 \cdot 10^2$ м.к. (норма не более $1 \cdot 10^3$ м.к.).

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты показали, что изучение и анализ паспортных данных контроля вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, хранившегося в ГКПМ ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (ГИСК им. Л.А.Тарасевича) в лиофилизированном состоянии в период с 1987 по 2013 год при температуре минус $(19 \pm 1)^\circ\text{C}$, подтверждают стабильность его основных иммунобиологических свойств (остаточная вирулентность, специфическая безопасность, иммуногенность и прививаемость) в установленных пределах регламентированных требований. Представленные данные оценки LD_{50} штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ послужили основанием для внесения в нормативную документацию изменения нормы показателя «Остаточная вирулентность» в пределах от $1 \cdot 10^2$ до $5 \cdot 10^3$ м.к. Изменение нормы показателя в сторону уменьшения позволит сократить количество животных, необходимых для проведения данного контроля.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гайский Н.А., Хижинская О.П. Первые итоги применения живой туляреминой вакцины. *Известия Иркутского Гос. противочум. ин-та Сибири и Дальнего Востока*. 1946; 6:10–5.
2. Избанова У.А., Куница Т.Н., Лухнова Л.Ю. Достижения в области специфической профилактики туляремии. *Medicine (Almaty)*. 2016; 10(172):49–59.
3. Олсуфьев Н.Г. Итоги и перспективы изучения и применения в СССР живой туляреминой вакцины. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1967; 5:3–10.
4. Олсуфьев Н.Г., Дунаева Т.Н. Туляремия. М.; 1960. 268 с.
5. Олсуфьев Н.Г., Емельянова О.С., Угловой Г.П., Салтыков Р.А., Сиротюк Л.В., Сильченко В.С., Катцын М.С., Левачева З.А., Кочуркова С.А., Бобылкова Т.В., Баранчиков В.Д., Веденева Е.В., Егорова Л.С., Иванов В.С., Баранова Н.К., Денисова В.Д., Шильмовер Э.С., Хомутова Н.В., Кутерьба Г.Г., Паньшева М.Д., Пелехова К.И., Красицкая З.И., Назарова М.Г., Красникова Е.И., Штучная А.А., Владимиров А.И., Коржева В.С. Сравнительное испытание на людях вариантов вакцинного туляреминого штамма 15 Гайского. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1971; 5:55–7.
6. Саяпина Л.В., Соловьев Е.А., Горяев А.А., Бондарев В.П. Изучение иммунобиологических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ в условиях длительного хранения. *Пробл. особо опасных инф.* 2015; 2:87–91.
7. Сиротюк Л.В. Биологические свойства туляреминых

вакцинных штаммов НИИЭГ. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1964; 10:116–20.

8. Barry E.M., Cole L.E., Santiago A.E. Vaccines against tularemia. *Hum. Vaccin.* 2009; 5(12):832–38.

9. Mann B.J., Ark N.M. Rationally designed tularemia vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8(7):877–85. DOI: 10.1586/erv.09.51.

10. Reed D., Smith L., Cole K., Santiago A., Mann B., Barry E. Live attenuated mutants of *Francisella tularensis* protect rabbits against aerosol challenge with a virulent type A strain. *Infect. Immun.* 2014; 82(5):2098–105. DOI: 10.1128/IAI.01498-14.

11. WHO Technical Report Series 927. WHO Expert Committee On Biological Standardization (54 report). Geneva: Switzerland; 2005 p.

References

1. Gaisky N.A., Khizhinskaya O.P. [First results of live tularemia vaccine application]. *Bulletin of Irkutsk State Anti-Plague Institute of Siberia and Far East*. M.; 1946; 6:10–5.
2. Izbanova U.A., Kunitsa T.N., Lukhnova L.Yu. [Achievements in the sphere of specific prophylaxis of tularemia]. *Medicine (Almaty)*. 2016; 10(172):49–59.
3. Olsuf'ev N.G. [Results and prospects of studies and application of live tularemia vaccine in USSR]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1967; 5:3–10.
4. Olsuf'ev N.G., Emel'yanova O.S., Uglovoy G.P., Saltykov R.A., Sirotyuk L.V., Sil'chenko V.S., Katsyn M.S., Levacheva Z.A., Kochurkova S.A., Bobylkova T.V., Baranchikov V.D., Vedeneva E.V., Egorova L.S., Ivanov V.S., Baranova N.K., Denisova V.D., Shil'mover E.S., Khomutova N.V., Kutseryb G.G., Panyшева M.D., Pelekhova K.I., Krasitskaya Z.I., Nazarova M.G., Krasnikova E.I., Shtuchnaya A.A., Vladimirova A.I., Korzheva V.S. [Comparative human trials of vaccine tularemia 15 Gaisky strain variants]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1971; 5:55–7.
5. Olsuf'ev N.G., Dunayeva T.N. [Tularemia]. M.; 1960. 268 p.
6. Sirotyuk L.V. [Biological properties of tularemia vaccine NIEG strains]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1964; 10:116–20.
7. Sayapina L.V., Solov'ev E.A., Goryaev A.A., Bondarev V.P. [Studies of immunobiological properties in *Francisella tularensis* vaccine strain 15 NIEG under extended storage conditions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2015; 2:87–91.
8. Barry E.M., Cole L.E., Santiago A.E. Vaccines against tularemia. *Hum. Vaccin.* 2009; 5(12):832–8.
9. Mann B.J., Ark Nicole M. Rationally designed tularemia vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2009; 8(7):877–85. DOI: 10.1586/erv.09.51.
10. Reed D., Smith L., Cole K., Santiago A., Mann B., Barry E. Live attenuated mutants of *Francisella tularensis* protect rabbits against aerosol challenge with a virulent type A strain. *Infect. Immun.* 2014; 82(5):2098–105. DOI: 10.1128/IAI.01498-14.
11. WHO Technical Report Series 927. WHO Expert Committee On Biological Standardization (54 report). Geneva: Switzerland; 2005 p.

Authors:

Sayapina L.V., Goryaev A.A., Davydov D.S., Postupailo V.B., Merkulov V.A. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: Sayapina@expmed.ru.

Khoreva I.I., Baidalova N.P. Joint Stock Company Scientific Production Association on Medical Immunobiological Preparations "Microgen". 15, 1st Dubrovskaya St., Moscow, 115088, Russian Federation.

Об авторах:

Саяпина Л.В., Горяев А.А., Давыдов Д.С., Поступайло В.Б., Меркулов В.А. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: Sayapina@expmed.ru.

Хорева И.И., Байдалова Н.П. Акционерное общество Научное производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген». Российская Федерация, 115088, Москва, ул. Дубровская 1-я, 15. E-mail: i.i.khoreva@microgen.ru.

Поступила 18.12.17.

Принята к публ. 09.01.18.