

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

УДК 615.371:579.842.23

А.А. Зуенко, Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, О.Л. Старцева, Т.М. Гридина, Ю.В. Богданова,
Г.Ф. Иванова, Д.В. Ростовцева**АНАЛИЗ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ
И ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТА**

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель исследования – проанализировать основные показатели качества выпускаемой вакцины чумной живой и стабильность препарата в процессе хранения. **Материалы и методы.** В работе проведен анализ паспортных данных серий вакцины чумной живой на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, выпущенных с 2012 по 2017 год в соответствии с требованиями нормативной документации. Исследуемые параметры: жизнеспособность, термостабильность, отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов, потеря в массе при высушивании, иммуногенность. **Результаты и выводы.** Проведен сравнительный анализ жизнеспособности вакцины (количества живых микробных клеток) в сериях, произведенных за последние 6 лет. Все исследованные серии вакцины соответствуют показателям, отраженным в спецификации к фармакопейной статье предприятия и промышленном регламенте, что свидетельствует о стабильности производства и основных показателей качества вакцины чумной живой в течение всего срока годности. Отмечено, что выпуск вакцины, соответствующей требованиям нормативной документации, зависит от строгого соблюдения персоналом производственных правил, использования высококачественного сырья и материалов, проведения валидации оборудования и технологических процессов производства.

Ключевые слова: вакцина чумная живая, жизнеспособность, срок годности, стабильность, качество препарата.

Корреспондирующий автор: Зуенко Анастасия Анатольевна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Зуенко А.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Гридина Т.М., Богданова Ю.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В. Анализ стабильности производства вакцины чумной живой и основных показателей качества препарата. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 4:54–57. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

А.А. Zuenko, N.V. Abzaeva, S.E. Gostishcheva, O.L. Startseva, T.M. Gridina, Yu.V. Bogdanova,
G.F. Ivanova, D.V. Rostovtseva**Assessment of Stability of Live Plague Vaccine Manufacturing and Basic Preparation
Quality Indicators**

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to analyze the basic quality parameters of the produced live plague vaccine and stability of the preparation during the storage process. **Materials and methods.** Specifications for batch series of the live plague vaccine on the basis of *Yersinia pestis* EV NIIEG, manufactured between 2012 and 2017, in compliance with the regulations of the normative documentation were assessed. The parameters under investigation were: viability, thermal resistance, absence of extraneous substances and fungi, weight loss in the process of drying, immunogenicity. **Results and conclusions.** Comparative analysis of the vaccine viability (quantity of live microbe cells) in the batches manufactured over the past 6 years was carried out. All the studied vaccine series have the appropriate indicators stated in the Specification to the Pharmacopeia Monograph and master formula which testifies to the stability of manufacturing line and basic live plague vaccine quality parameters throughout the whole term of storage. It is outlined that the production of the vaccine, corresponding to the requirements of the normative regulations, depends upon the strict adherence to the rules by the personnel, usage of high-grade stock and materials, validation of equipment and technological processes of manufacturing.

Key words: live plague vaccine, livability, shelf life, stability, preparation quality.

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

Corresponding author: Anastasia A. Zuenko, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Zuenko A.A., Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Gridina T.M., Bogdanova Yu.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V. Assessment of Stability of Live Plague Vaccine Manufacturing and Basic Preparation Quality Indicators. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:54–57. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

Received 01.08.18. *Revised* 11.12.18. *Accepted* 13.12.18.

В связи с сохранением напряженной эпидемиологической обстановки на территории природных очагов чумы, разработаны комплексные планы мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению природного очага чумы и снижению эпидемических рисков в 2017 г., которые включают вакцинацию против чумы населения, постоянно про-

живающего на эпизоотической территории или временно пребывающего [1].

Для специфической профилактики чумы наиболее эффективным препаратом противоэпидемического значения является вакцина чумная живая на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, обеспечивающая напряженный и эффективный пост-

вакцинальный иммунитет.

В настоящее время в Российской Федерации лекарственный препарат «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций» выпускается в ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» согласно нормам и требованиям промышленного регламента производства (ПР) 01897080-09-16 и фармакопейной статьи предприятия (ФСП) ЛСР 005759/08-22072008, с изменением от 19.08.2013 г.

Производство вакцины чумной – сложный и длительный технологический процесс, включающий контроль исходных материалов, подготовку технологического оборудования, получение препарата, внутрипроизводственный и выпускающий контроль качества в лаборатории биологического и технологического контроля, последующую экспертизу в Органе по сертификации, передачу на склад готовой продукции и реализацию препарата, а также экспертизу производственной документации.

В соответствии с требованиями (Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в редакции от 28.11.2018 г., Приказ Министерства промышленности и торговли РФ от 14.06.2013 г. № 916 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств», Руководство ВОЗ по требованиям GMP – надлежащей практике организации производства) лаборатория биологического и технологического контроля проводит постоянный контроль и анализ данных по качеству и стабильности лекарственного препарата, определяет тенденции несоответствия или изменения каких-либо параметров и их своевременного устранения [2]. Вместе с тем оценка качества лекарственных препаратов связана с рядом особенностей, обусловленных вариабельностью основных показателей, таких как жизнеспособность, термостабильность, иммуногенность [3].

Качество вакцинного препарата характеризуется главным образом его эффективностью и безопасностью, о которых судят по показателям, определяемым физико-химическими, микробиологическими и иммунобиологическими методами.

Цель исследования – проанализировать паспортные данные основных показателей качества готовой продукции и стабильность лекарственного препарата в процессе хранения.

Материалы и методы

В работе использованы серии вакцины чумной живой на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, выпущенные с 2012 по 2017 год. Качество чумной вакцины оценивали по основным показателям: жизнеспособность, термостабильность, отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (бактериологический метод), потеря в массе при высушивании (весовой метод), иммуногенность

(биологический метод), согласно ФСП 42-8654-07, Государственной фармакопеи XIII, ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность», ОФС.1.4.2.0003.15 «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения», ОФС.1.2.1.0004.15 «Аномальная токсичность», ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании», ФС.3.3.1.0022.15 «Вакцина чумная живая», ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств».

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Вакцина чумная живая представляет собой живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, лиофилизированную в стабилизирующей среде (сахарозо-желатиновая с тиомочевинной). Препарат выпускают в форме лиофилизата в ампулах объемом 2 мл, запаянных под вакуумом. В зависимости от концентрации и процента живых микробных клеток, в ампуле содержится от 80 до 430 подкожных доз. В соответствии с установленными требованиями спецификации вакцина должна содержать чистую культуру вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ; быть безопасной; не содержать посторонних микроорганизмов и грибов; потеря в массе при высушивании – не более 4,0 %; концентрация микробных клеток по ОСО мутности бактериальной взвеси ($10 \cdot ME$, соответствующий $1 \cdot 10^9$ м.к./мл чумного микроба, должна составлять от $5 \cdot 10^{10}$ до $1 \cdot 10^{11}$ м.к./мл; число живых микробных клеток (ж.м.к.) – не менее 25 % от общего количества. ED_{50} вакцины для морских свинок не должна превышать $1 \cdot 10^4$, для белых мышей – $4 \cdot 10^4$ ж.м.к. Термостабильность – срок, в течение которого в препарате сохраняется 50 % живых микробных клеток по отношению к первоначальному числу, должна составлять не менее 4 сут (табл. 1).

Основной характеристикой живой вакцины является количество живых микробных клеток в лиофилизате, а также сохранение этого показателя в течение срока годности, который составляет 3 года. Другие показатели качества препарата при хранении не претерпевают изменений.

Архивные (арбитражные) образцы каждой серии вакцины хранятся в лаборатории биологического и технологического контроля в течение 4 лет. За последние 6 лет в институте произведено 72 серии вакцины чумной живой, которые прошли полный контроль на производстве и в ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, на выпущенные серии получены Сертификаты соответствия. Рекламации на выпущенную продукцию не поступали.

Многочисленными исследованиями показано, что в процессе хранения показатель жизнеспособ-

Таблица 1/Table 1

Результаты оценки показателей качества вакцины чумной живой
Results of assessment of live plague vaccine quality parameters

Показатели	Требования ИП	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	M±m
Концентрация микробных клеток (м.к./мл)	(50–100)·10 ⁹	65,39±2,31	84,55±2,56	66,43±2,75	64,47±4,03	67,50±4,03	68,00±2,79	69,39±3,08
Жизнеспособность, %	не менее 25 %	32,84±2,20	30,15±0,95	38,63±1,94	32,61±0,60	40,76±3,49	56,56±4,59	38,59±3,95
Термостабильность, сут.	не менее 4 сут.	6,51±0,27	15,20±2,40	11,17±0,74	7,88±0,42	12,11±1,80	12,36±0,28	10,87±1,30
Потеря в массе при высушивании, %	не более 4,0 %	1,79±0,16	1,63±0,16	1,32±0,05	1,36±0,05	1,50±0,07	1,30±0,04	1,48±0,08
Количество подкожных доз	от 80 до 430	144,36±12,47	168,91±5,51	169,29±8,19	143,95±5,85	184,63±19,30	260,50±28,21	178,61±17,60
ЕД ₅₀ для белых мышей, ж.м.к.	не более 4·10 ⁴	14040,67±3516,00	10263,50±1904,24	6187,00±1125,71	16996,67±5050,28	16675,50±1653,92	14017,50±844,99	13030,14±1849,33
ЕД ₅₀ для морских свинок, ж.м.к.	не более 1·10 ⁴	5141,67±1002,95	8890,50±894,49	2297,00±1244,51	8021,33±1053,31	7146,00±1178,04	8078,00±224,86	6595,75±1102,57

ности микробных клеток в препарате претерпевает изменения [4, 5]. В связи с этим, в соответствии с ОФС.1.1.0009.15, проводится оценка стабильности препарата в течение всего срока годности. Стабильность (устойчивость) – это фактор качества лекарственных средств, их способность сохранять физико-химические свойства и фармакологическую активность, предусмотренные требованиями нормативной документации в течение установленного срока годности. Критерием стабильности лекарственного препарата служит сохранение его качества, т.е. внешнего вида, растворимости, подлинности, специфической активности и других нормированных показателей. Помимо этого, на стабильность вакцины значительное влияние оказывают условия получения, хранения и транспортировки. При нарушении условий хранения вакцина теряет иммунобиологические свойства, так как ее способность вызывать активный специфический иммунитет снижается, а реактогенность может повышаться. В связи с этим вакцинация не всегда бывает эффективной, а вероятность развития нежелательных явлений повышается.

Только соблюдение условий технологического процесса обеспечивает соответствие требованиям спецификации и стабильность конечного продукта. Авторами проведен сравнительный анализ паспортных данных по показателю «Процент живых ми-

кробных клеток» в сериях вакцины, произведенных за последние 6 лет (табл. 2). Показано, что среднее снижение заявленной при выпуске жизнеспособности через 12 месяцев хранения составило 1,1 %, через 24 месяца – 2,1 и через 36 месяцев – 8,0.

Различия между показателями стандартных отклонений повторяемости для изученных показателей статистически недостоверны ($p \leq 0,05$), что позволяет говорить о повторяемости и воспроизводимости рассмотренных показателей.

Анализируя приведенные выше данные, можно отметить, что произведенная в течение 6 последних лет вакцина чумная живая отличается вариабельностью биологических показателей (жизнеспособность), что связано с особенностями биотехнологии производства (качество питательных основ, условия культивирования, концентрация бактериальной суспензии в ампуле, параметры лиофилизации). При этом все серии вакцины соответствуют показателям, отраженным в спецификации к ФСП и промышленном регламенте на производство.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о стабильности производства и основных показателей качества вакцины чумной живой. Выпуск вакцины, соответствующей требованиям НД, зависит от строгого соблюдения персоналом правил производства, изложенных в ИП, использования вы-

Таблица 2/Table 2

Жизнеспособность вакцины чумной живой на протяжении срока хранения
Viability of live plague vaccine throughout the storage term

Год производства	Количество серий	Жизнеспособность, %						
		На дату выпуска	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.
2012	14	32,84±2,20	32,61±2,27	32,57±2,27	32,40±2,28	31,85±2,17	31,63±2,13	24,94±0,20
2013	11	30,15±0,95	29,99±0,99	29,80±0,98	29,59±1,00	29,10±0,99	28,70±0,98	25,45±0,32
2014	14	38,63±1,94	38,39±2,01	37,99±2,01	37,76±2,01	37,46±2,00	37,12±2,00	25,51±0,73
2015	19	32,61±0,60	31,12±0,67	30,53±0,54	29,49±0,49	28,05±0,31	27,25±0,34	26,26±0,30
2016	8	40,76±3,49	39,91±3,57	38,99±3,52	38,84±3,49	37,91±3,47		
2017	8	56,56±4,59	55,69±4,74	55,06±4,72				

сококачественного сырья и материалов, проведения валидации оборудования и технологических процессов производства.

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

Список литературы:

1. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Вершинин С.А., Косилко С.А., Иннокентьева Т.М., Григорьев М.П., Дегтярев Д.Ю., Герасименко Е.В., Дубянский В.М., Шилов М.М., Топорков В.П., Зенкевич Е.С., Попов В.П., Лопатин А.А., Безсмертный В.Е., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:50–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55.
2. Давыдов Д.С. Анализ стабильности показателей качества биологических лекарственных препаратов при проведении испытаний в рамках подтверждения соответствия. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017; 17(4):230–2. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-4-230-232.
3. Климов В.И., Саканян Е.И., Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Мовсеянц А.А., Лебединская Е.В., Шестакова А.П. Анализ потребностей в стандартных образцах, предназначенных для оценки качества биологических лекарственных средств. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017; 17(2):87–94. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-2-87-94.
4. Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Гостищева С.Е., Фисун А.А., Ляпустина Л.В. Сравнительный анализ экспериментальных серий вакцины чумной живой по показателям жизнеспособности и термостабильности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 4:68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-68-71.
5. Будыка Д.А., Фисун А.А., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Катунина Л.С. Анализ воздействия экстремальной температуры на полуфабрикат вакцины чумной живой в различные сроки хранения готового препарата. *Здоровье населения и среда обитания*. 2013; 5:28–30.

References

1. Popov N.V., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Vershinin S.A., Kosilko S.A., Innokent'eva T.M.,

Grigor'ev M.P., Degtyarev D.Yu., Gerasimenko E.V., Dubyansky V.M., Shilov M.M., Toporkov V.P., Zenkevich E.S., Popov V.P., Lopatin A.A., Bezsmertny V.E., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008-2017 and forecast for 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 1:50–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55.

2. Davydov D.S. [Trend analysis of batch to batch consistency during quality assessment of biological medicinal products]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie*. 2017; 17(4):230–2. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-4-230-232.

3. Klimov V.I., Sakanyan E.I., Volkova R.A., Fadeykina O.V., Movsesyants A.A., Lebedinskaya E.V., Shestakova A.P. [Analysis of the demand for reference standards used in quality evaluation of biologicals]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie*. 2017; 17(2):87–94. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-2-87-94.

4. Budyka D.A., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Gostishcheva S.E., Fisun A.A., Lyapustina L.V. [Comparative analysis of experimental series of live plague vaccine by viability and thermal stability indices]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; 4:68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-68-71.

5. Budyka D.A., Fisun A.A., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Katunina L.S. [Analysis of the effect of extreme temperature on the half-finished product of the live plague vaccine in various periods of storage of the finished preparation]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2013; 5:28–30.

Authors:

Zuenko A.A., Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Gridina T.M., Bogdanova Yu.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Зуенко А.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Гридина Т.М., Богданова Ю.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Поступила 01.08.18.

Отправлена на доработку 11.12.18.

Принята к публ. 13.12.18.