

Результаты переаттестации отраслевого стандартного образца и использование его при экспертизе качества вакцин против натуральной оспы

А.В. Мухачева (muhacheva@expmed.ru), В.В. Перекрест, А.А. Мовсесянц, К.А. Саркисян, А.Ю. Бутырский, О.В. Фадейкина, Р.А. Волкова, Д.В. Шведов, В.А. Шевцов

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва

Резюме

В статье приведены сведения о пострегистрационной оценке качества препаратов для профилактики натуральной оспы за 8-летний период (2007 – 2015 гг.), где как эталон сравнения использовался Отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины. Приведены результаты очередной переаттестации Отраслевого стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины ОСО 42-28-113-12 (ОСО), проведенной в 2015 году.

Отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины переаттестован со значением показателя «Специфическая активность» равным $4,9 \pm 2,7 \times 10^8$ ООЕ/мл. Также были подтверждены характеристики, аттестованные ранее: специфичность (подлинность) и некротическая активность. Показатели «Специфическая активность» и «Специфичность (подлинность)» на хорионаллантоисной оболочке 12-дневных куриных эмбрионов оценивались в сравнении с первым Международным стандартным образцом оспенной вакцины. Проведенная переаттестация ОСО подтвердила возможность его дальнейшего использования. Срок годности до следующей переаттестации составил 3 года.

Ключевые слова: пострегистрационная оценка препарата, вакцина оспенная живая, ОспаВир

The Results of Re-certification of Reference Standard Sample Used for the Examination of Quality Smallpox Vaccines

A.V. Muhacheva (muhacheva@expmed.ru), V.V. Perekrst, A.A. Movsesyants, K.A. Sarkisyan, A.U. Butyrskiy, O.V. Fadeikina, R.A. Volkova, D.V. Shvedov, V.A. Shevtsov.

Federal State Budgetary Institution «Scientific Center on Expertise of Medicinal Application Products» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Abstract

The article presents the results of research quality of drugs for the prevention of smallpox during the period from 2007 to 2015 years, where the reference standard uses industry standard of activity, specificity (identification) and necrotic activity of smallpox vaccine, on indicators: «Specific activity», «The antigenic activity» and «Specific safety». Described research methods, presented results and statistical analysis of the results.

The article also provided the results of the regular re-certification of reference standard sample activity, specificity (identification) and necrotic activity smallpox vaccine ОСО 42-28-113-12 (ОСО), held in 2015.

Branch reference preparation for the determination of activity, specificity and necrotic activity of the smallpox vaccine was re-certified with the «specific activity» assigned value of $4,9 \pm 2,7 \times 10^8$ pfu/ml. Other certified characteristics were also confirmed. The criteria «Specific activity» and «Specificity (identification)» were determined using chorioallantoic membrane of 12-days-old chicken embryos and compared against the First International reference preparation of the smallpox vaccine. The re-certification of the branch reference preparation for the determination of activity, specificity (identification) and necrotic activity of the smallpox vaccine (42-28-113-12) confirmed the possibility of its further use. The shelf-life before the next re-certification is 3 years.

Keywords: Postmarketing evaluation of the quality of drugs; Smallpox vaccine, live; OspaVir. Smallpox vaccine is inactivated; industry standard of activity, specificity and necrotic activity smallpox vaccine; specific activity, testing of vaccines for the prevention of smallpox

Введение

Натуральная оспа – единственная болезнь человека, которая была ликвидирована в результате всеобщей вакцинации, и это достижение остается одним из величайших триумфов современной меди-

цинской науки [1, 2]. Иницированная учеными СССР в 1958 году международная программа Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по глобальной ликвидации оспы, основанная на массовой вакцинации населения Земли вирусом осповакци-

ны (BOB) и строгом эпидемиологическом надзоре, к 1977 году привела к элиминации натуральной оспы [3]. В 1980 году было официально объявлено, что натуральная оспа ликвидирована [1].

В настоящее время на фоне резко понизившегося противооспенного популяционного иммунитета вирус натуральной оспы (ВНО) может быть представлять особую опасность для человечества в качестве вероятного биотеррористического оружия. Нельзя игнорировать возможность заражения людей оспой из таких источников, как старые захоронения при археологических раскопках, особенно в зонах вечной мерзлоты [4]. Исследования последних лет показали, что помимо элиминированного ВНО, диапазон носителей ортопоксвирусов среди диких животных (обезьян и др.) гораздо шире, чем считалось первоначально. Выше приведенное вызывает необходимость нового подхода к вакцинопрофилактике у людей инфекций, которые могут быть вызваны ортопоксвирусами [4]. Одной из важных мер для предотвращения возникновения этого опасного заболевания является наличие резервного запаса препаратов для профилактики оспы.

Сейчас в Российской Федерации зарегистрированы следующие препараты для профилактики натуральной оспы: Вакцина оспенная живая, Вакцина оспенная инактивированная (ОспаВир), используемая при проведении двухэтапной вакцинации, Вакцина оспенная эмбриональная живая (ТЭОВак, таблетки покрытые оболочкой делимые), а также иммуноглобулин человека противооспенный, выпуск которого в настоящее время не осуществляется [4].

Современные подходы к характеристике иммунобиологического препарата не ограничиваются только физическими, химическими или физико-химическими методами. При испытании вакцин используются биологические методы контроля для характеристики их качества, что позволяет наиболее точно определить действие препарата на живой организм. Для оценки биологическими методами основных показателей качества, а именно: специфическая активность, подлинность, некротическая активность, термостабильность, антигенная активность, специфическая безопасность необходимо использование Отраслевых стандартных образцов (ОСО), которые являются неотъемлемой частью правил всей системы организации производства и контроля качества лекарственных средств [5].

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) придает большое значение разработке, утверждению и применению Международных стандартных образцов (International Standard), которые называют первичными стандартными образцами [6, 7].

Актуальна проблема совершенствования методов стандартизации и контроля иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП); в том числе и препаратов для профилактики натуральной оспы. В этой связи необходимы разработка, аттестация

и применение при производстве и контроле данных препаратов ОСО специфической активности, которые должны соответствовать первому Международному стандарту оспенной вакцины.

Первый Международный стандарт оспенной вакцины (The international reference preparation for smallpox vaccine, код: SMV NIBSC – The National Institute for Biological Standards and Control) был утвержден в 1962 году и представляет собой очищенную концентрированную овечью вакцину, изготовленную из штамма *Lister BOB*, который используется в Великобритании при производстве вакцины более 60 лет. Каждая ампула первого Международного стандарта содержит около 14 мг лиофилизированной оспенной вакцины. Специфическая активность первого Международного стандартного образца (определяемая по количеству оспин на хорионаллантоисной оболочке (ХАО) куриных эмбрионов) должна составлять около $10^{8.4}$ ООЕ (оспообразующие единицы) в 1 мл [8].

В качестве кандидата ОСО была предложена Вакцина оспенная живая серии № 130406, которая была аттестована в 2007 году в соответствии с рекомендациями ВОЗ по следующим основным показателям [9]:

1. Специфическая активность и специфичность (подлинность) на ХАО куриных эмбрионов;
2. Специфичность (подлинность) при нанесении разведений ОСО на скарифицированную кожу кроликов в дозе, равной 10^4 ООЕ/0,1 мл;
3. Некротическая активность: отсутствие некрозов при внутрикожном введении кроликам дозы, равной 10^4 ООЕ/0,1 мл.

В процессе аттестации были проверены следующие дополнительные показатели: описание, герметизация, потеря в массе при высушивании, масса сухого вещества и коэффициент вариации.

Аттестованный ОСО 42-28-113-07 в соответствии с требованиями нормативной документации (НД) использовали для стандартизации производства и оценки достоверности данных, полученных при экспертизе качества оспенных вакцин по следующим показателям: специфическая активность, специфичность (подлинность), некротическая активность [9, 10], а при исследовании качества вакцины оспенной инактивированной – антигенная активность, подлинность и специфической безопасности [11].

На протяжении срока действия (2007 – 2012 гг.) ОСО сохранял значения аттестованных характеристик активности, специфичности и некротической активности. В соответствии с практикой ВОЗ, по окончании срока действия необходима оценка количественных и качественных характеристик ОСО с целью определения его стабильности при хранении и возможности его дальнейшего использования [7]. В декабре 2012 года была проведена переаттестация ОСО и ему был присвоен номер (ОСО 42-28-113-12). Результаты данной работы

приведены в статье «Результаты переаттестации Отраслевого стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины» и опубликованы ранее [5].

По истечении срока действия ОСО в 2015 году была проведена очередная переаттестация, были получены данные, которые подтвердили возможность его дальнейшего использования, присвоен номер 42-28-113-15, срок действия был продлен на 3 года до очередной переаттестации. Полученные результаты переаттестации изложены в данной статье.

Цель исследования – пострегистрационная оценка качества препаратов для профилактики натуральной оспы за 8-летний (2007 – 2015 гг.) с использованием отраслевого стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины, прошедшего аттестацию и переаттестацию в установленные сроки (2007 г., 2012 г., 2015 г.).

Материалы и методы

Материалы

- отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности ОСО 42-28-113. ОСО прошел аттестацию и переаттестацию в установленные сроки (2007 г., 2012 г., 2015 г.).
- производственные серии препаратов: Вакцина оспенная живая (Вакцина оспенная), ОспаВир® (Вакцина оспенная инактивированная) производства «ФГУП НПО «Микроген» Минздрава России;
- 70% раствор спирта этилового;
- фосфатноцитратный буферный раствор Мак-Ильвейна 0,004 М;
- натрия хлорид раствор для инфузий 0,9%;
- Животные и куриные эмбрионы:
 - * 12-дневные куриные эмбрионы пород Леггорн белый из питомника ФГУП «Загорское ЭПХ НИТИП» МО г. Сергиев Посад;
 - * белые крысы нелинейные массой от 80 до 90 г.

Методы

Определение специфической активности проводили методом нанесения на хорион-аллантоисную (ХАО) 12-дневных куриных эмбрионов разведений исследуемого ОСО согласно методике, изложенной в инструкции по применению [9]. При этом варьировались условия выполнения опыта: исследование проводилось различными исполнителями в различные периоды в течение года (фактор, который может оказать влияние на биологический объект – куриные эмбрионы), в качестве эталона сравнения использовали первый Международный стандартный образец оспенной вакцины

Определение специфичности (подлинности) ОСО изучали с использованием двух тестов. При введении разведений препарата на ХАО 12-дневных ку-

риных эмбрионов должны образовываться белые плотные оспины диаметром от 0,5 до 3 мм. Исследование проводили в сравнении с первым Международным стандартным образцом. Другой метод определения подлинности применяли на кроликах. Разведения препарата вводили на скарифицированную кожу кроликов. В дозе 10^4 ООЕ/0,1 мл должны формироваться типичные оспины на 5 – 7 сутки наблюдения [10, 13].

Изучение термостабильности осуществляли методом определения специфической активности препарата, как описано выше. Предварительно ампулы с лиофилизатом вакцины оспенной живой и ОСО инкубировали при температуре 37 ± 1 °C в течение 28 сут [10].

Также был проведен тест ускоренной деградации: ампулы с лиофилизатом ОСО выдерживались при температуре 61 ± 1 °C в течение 5 часов после чего проводилось определение их специфической активности. Данная методика указана в требованиях НД на препарат «Вакцина оспенная живая» и может использоваться при необходимости экстренного контроля препарата в случае возможности выдерживания препарата при температуре 37 ± 1 °C в течение 28 суток [10].

Определение pH проводили потенциометрическим методом (согласно требований, указанных в ФСП) [10];

Определение герметичности ампул с ОСО осуществляли в соответствии с МУК 4.1/4.2.588 – 96 [10].

Исследование препарата «Вакцина оспенная живая» осуществляли методом, описанным выше, а именно: определение специфической активности проводили методом нанесения на хорион-аллантоисную (ХАО) 12-дневных куриных эмбрионов, определение специфичности (подлинности) двумя методами, определение термостабильности методом нанесения на хорион-аллантоисную (ХАО) 12-дневных куриных эмбрионов после предварительной инкубации препарата при температуре 37 ± 1 °C в течение 28 суток, определение некротической активности препарата проводили путем внутрикожного заражения кроликов разведениями препарата, а также определение других показателей (биохимических, визуальных) в соответствии с требованиями документации [10].

Исследование препарата ОспаВир® Вакцина оспенная инактивированная, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения (ОспаВир), а также подтверждения возможности использования при контроле данного препарата ОСО применяли биологические, физические, химические, микробиологические методы и др., указанные в требованиях НД на препарат [11]. Исследовали антигенную активность препарата с помощью определения среднегеометрического титров (СГТ) вируснейтрализующих антител (ВНА) к вирусу осповакцины в сыворотках крови белых крыс, иммунизированных одной дозой вакцины.

Данный метод также используется для определения подлинности препарата. Для постановки реакции нейтрализации (РН) используется ОСО [11]. Предварительно определяют рабочее разведение вируса титрованием на ХАО 12-дневных куриных эмбрионов. Для реакции нейтрализации используют то разведение вируса, которое дает на ХАО 40 – 60 оспин. Соответствующие разведения сывороток, указанные в НД, в смеси с вирусом наносят на ХАО 12-дневных куриных эмбрионов. После инкубации подсчитывают количество оспин, развившихся на ХАО. Титром ВНА считают конечное разведение иммунной сыворотки, дающее нейтрализацию 50% и более оспин от среднеарифметического числа, определенного в контроле с нормальной сывороткой. СГТ должен быть не менее 1:80 [11].

Исследование по показателю «Специфическая безопасность» ОспаВир проводили на ХАО 12-дневных куриных эмбрионов. На ХАО наносили содержимое ампулы испытуемого препарата и после инкубации при температуре 37 ± 1 °С в течение 48 часов оболочку просматривали на черном фоне. Препарат не должен вызывать образование специфических поражений (оспин) на ХАО. В качестве контроля для проведения испытания используется ОСО. В контрольном опыте должен быть подтвержден установленный титр ОСО [11], что удостоверяет чувствительность данной партии куриных эмбрионов к вирусу осповакцины при испытании.

Статистические данные (средние арифметические значения и стандартные среднеквадратические отклонения показателя «Специфическая активность» ОСО и Вакцины оспенной живой) были рассчитаны с использованием программы Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение

Результаты переаттестации ОСО активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины

Значения показателей специфической активности и подлинности ОСО представлены в таблице 1.

Для сравнения значений показателя специфической активности ОСО 42-28-113-2012 с активностью международного стандарта, был проведен опыт, результаты которого представлены в таблице 2.

Как видно из данных таблиц 1 и 2 среднее значение показателя «Специфическая активность» ($n = 16$) составило: $4,9 \times 10^8$ ООЕ/мл. Стандартное отклонение: 1,35. Значительной разницы между показателями специфической активности при постановке опыта разными исполнителями выявлено не было, что подтвердило воспроизводимость методики.

ОСО переаттестован со значением показателя «Специфическая активность» $4,9 \pm 2,7 \times 10^8$ ООЕ/мл, а также по показателю «Подлинность» на хорионаллантоисной оболочке куриных эмбрионов с характеристикой: Вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных

эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм.

При сравнении значений показателя специфической активности ОСО и первого Международного стандарта, было установлено соответствие результатов исследования ОСО требованиям НД [9]. Кроме того, эти данные были сопоставимы и имели один порядок (специфическая активность составила 10^8 ООЕ/мл), что свидетельствует о стабильности специфической активности ОСО.

Определение подлинности испытуемого стандартного образца подтвердило соответствие требованиям нормативной документации по данному показателю, воспроизводимости результатов испытаний, проводимых различными исполнителями.

Определение подлинности методом скарификации

Определение подлинности проводили методом скарификации белокожих кроликов породы шиншилла по методике, описанной в ФСП. Согласно требований нормативной документации, испытуемый препарат должен вызывать типичные вакцинальные поражения – оспины при накожном прививании кроликов. Проведенные испытания подтвердили соответствие отраслевого стандартного образца требованиям нормативной документации по показателю «Подлинность» на кроликах.

ОСО переаттестован по показателю «Подлинность» на ХАО куриных эмбрионов с характеристикой: Вызывает образование типичных вакцинальных поражений – оспин.

Определение некротической активности

Испытание проводилось по методике, описанной в НД, согласно требованиям которой испытуемый препарат в дозе 10^4 ООЕ/0,1 мл не должен вызывать некрозов при внутрикожном введении кроликам. Было проведено испытание по данному показателю в двухкратной повторности. Было установлено, что внутрикожное заражение кроликов ОСО в дозе 10^4 ООЕ/0,1 мл не вызывает некрозов.

Полученные результаты подтвердили, что отраслевой стандартный образец соответствует требованиям нормативной документации по показателю некротическая активность.

Определение термостабильности

Определение термостабильности ОСО проводили по ФСП Р N001141/01-120214 на препарат «Вакцина оспенная живая» [10]. Испытуемые образцы в количестве 4 ампул выдерживались при температуре 37 ± 1 °С в течение 28 суток. После выдерживания при данной температуре определяли специфическую активность испытуемых образцов.

Среднее значение показателя «Термостабильность» ($n = 2$) составило: $3,8 \times 10^8$ ООЕ/мл. Стандартное отклонение: 0,28.

С целью сравнительного изучения степени снижения показателя «Специфическая активность» при воздействии различных температурных режимов,

Таблица 1.

Специфическая активность и подлинность ОСО при переаттестации в 2015 году

Дата испытания	Значение показателя «Специфическая активность», ООЕ/мл	Подлинность
28.04. – 30.04.2015	3,7 x 10 ⁸	ОСО вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
28.04. – 30.04.2015	4,5 x 10 ⁸ 3,2 x 10 ⁸ в одном опыте (эмбрионы заражались одним разведением препарата, разными исполнителями)	ОСО вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
06.05. –08.05.2015	4,8 x 10 ⁸	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
07.05. –09.05.2015	6,6 x 10 ⁸	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
13.05.2015– 15.05.2015	5,5 x 10 ⁸	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
16.05.2015– 18.05.2015	6,5 x 10 ⁸	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
26.05. –28.05.2015	6,8 x 10 ⁸ ; 5,0 x 10 ⁸ в одном опыте (эмбрионы заражались одним разведением, разными исполнителями)	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
27.05.2015– 29.05.2015	2,9 x 10 ⁸ ; 2,9 x 10 ⁸ в одном опыте (эмбрионы заражались одним разведением, разными исполнителями)	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
19.05.2015 – 21.05.2015	4,8 x 10 ⁸ ; 4,4 x 10 ⁸ в одном опыте (эмбрионы заражались одним разведением, разными исполнителями)	ОСО вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
17.11. – 19.11.2015	5,2 x 10 ⁸	ОСО вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм
24.11. – 26.11.2015	6,7 x 10 ⁸	ОСО вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм

Таблица 2.

Сравнение показателя «Специфическая активность» ОСО с Первым международным стандартным образцом оспенной вакцины.

Дата испытания	Специфическая активность международного стандарта SMV, ООЕ/мл	Специфическая активность ОСО, ООЕ/мл	Подлинность
24.11. – 26.11.2015	1,7 x 10 ⁸	6,7 x 10 ⁸	Вакцина вызывает на ХАО КЭ 12-дневных куриных эмбрионов образование белых плотных поражений диаметром от 0,5 до 3 мм

Таблица 3.

Специфическая активность ОСО 42-28-113-2012 при испытаниях Вакцины оспенной инактивированной (ОспаВир)

Дата проведения испытания	Значение показателя «Специфическая активность» ОСО 42-28-113-2012
28.04. – 30.04.2015	$3,7 \times 10^8$ ООЕ/мл
19.05. – 21.05.2015	$4,8 \times 10^8$ ООЕ/мл

которые предусмотрены в нормативной документации на препарат Вакцина оспенная живая, нами было проведено определение специфической активности после воздействия температуры 61 ± 1 °С в течение 5 часов. Значение показателя «Специфическая активность» ОСО 42-28-113-2012 составило $4,3 \times 10^8$ ООЕ/мл, что доказало возможность применения ускоренного прогревания препарата только в экстренных ситуациях.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что испытуемый стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины соответствует требованиям НД по показателю «Термостабильность».

Проведенные испытания подтвердили соответствие отраслевого стандартного образца требованиям нормативной документации по показателям «Подлинность» и «Некротическая активность».

При испытаниях по показателю «Герметизация и «рН» ОСО 42-28-113-2012 соответствовал требованиям НД.

Определение антигенной активности и подлинности вакцины ОспаВир

Для определения антигенной активности и подлинности вакцины оспенной инактивированной проводится РН на хорионаллантоисной оболочке (ХАО) куриных эмбрионов. ОСО используется при постановке РН в качестве вируса для нейтрализации сывороток крови крыс, предварительно иммунизированных испытуемой вакциной. Предварительно проводят определение рабочего разведения вируса, которое образует на ХАО куриных эмбрионов от 40 до 60 оспин.

В 2015 году была исследована одна серия вакцины ОспаВир в трех повторах.

Было установлено, что ОСО при разведении в степени 10^6 во всех случаях вызывает образование от 40 до 60 оспин на ХАО куриных эмбрионов. Препарат соответствовал требованиям НД. Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что ОСО может использоваться для проведения реакции нейтрализации для определения антигенной активности у ОспаВир. Возможность такого использования была указана в паспорте на ОСО 42-28-113-2015.

Определение специфической безопасности вакцины ОспаВир

Важнейшей характеристикой безопасности вакцины ОспаВир является отсутствие в препарате живого вируса осповакцины, отсутствие которо-

го подтверждается при испытании по показателю «специфическая безопасность».

При оценке специфической безопасности, восстановленный испытуемый препарат не должен вызывать специфических поражений на хорионаллантоисной оболочке куриных эмбрионов при его нанесении. В контрольном опыте должна быть подтверждена заявленная специфическая активность отраслевого стандартного образца для возможности оценки чувствительности используемой партии куриных эмбрионов.

При проведении исследования испытуемый препарат соответствовал требованиям НД по показателю «специфическая безопасность», при заражении ХАО куриных эмбрионов вакциной ОспаВир специфические поражения отсутствовали.

В таблице 3 представлены результаты испытаний одной серии вакцины оспенной инактивированной (ОспаВир) в двух повторах, которые свидетельствуют о достоверности результатов, а также возможности использования ОСО 42-28-113-2012 в качестве контроля, подтверждающего установленную степень чувствительности куриных эмбрионов при проведении опыта.

Возможность данного использования была также указана в паспорте на ОСО 42-28-113-2015.

Пострегистрационная оценка качества препаратов для профилактики натуральной оспы за 8-летний период (2007 – 2014 гг.) по количественным характеристикам с использованием в качестве стандарта ОСО

Для пострегистрационной оценки качества препаратов для профилактики натуральной оспы использовали как стандарт ОСО, прошедшего аттестацию в 2007 году и переаттестацию в 2012 году. Нами были проанализированы данные за 8 лет (2007 – 2014 гг.), полученные при испытаниях производственных серий препаратов Вакцина оспенная и ОспаВир. Испытания проводились в соответствии с требованиями нормативной документации производителя [10, 11].

Результаты средних значений показателя «Специфическая активность» с 2007 по 2010 год препарата Вакцина оспенная живая и ОСО, представлены на рисунке 1 в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, на протяжении четырех лет Вакцина оспенная живая соответствовала требованиям НД по показателю «Специфическая активность». За данный период времени было исследовано 15 серий препарата. Значение показателя «Специфическая активность» ОСО соответствовало заявленному при аттестации.

Рисунок 1.

Результаты средних значений показателя «Специфическая активность» препарата «Вакцина оспенная живая» в сравнении с ОСО 42-28-113-07 с 2007 по 2010 годы

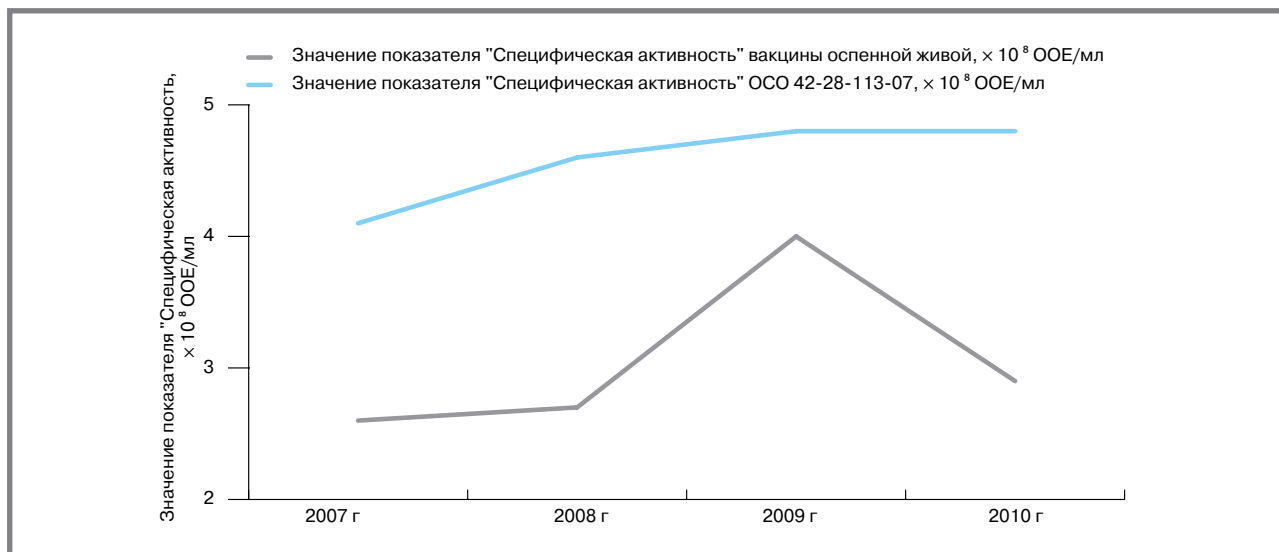


Таблица 4.

Специфическая активность производственных серий вакцины оспенной живой и ОСО 42-28-113-07 за 2007 – 2010 годы

Наименование	Наименование показателя	Требования НД	Результат исследования
Вакцина оспенная живая	Специфическая активность	Не менее 1×10^8 ООЕ/мл и не более 2×10^9 ООЕ/мл	$(3,15 \pm 1,31) \times 10^8$ ООЕ/мл
ОСО 42-28-113-07	Специфическая активность	$(4,8 \pm 0,21) \times 10^8$ ООЕ/мл	$(4,61 \pm 0,62) \times 10^8$ ООЕ/мл

Таблица 5.

Результаты исследований препарата «ОспаВир Вакцина оспенная инактивированная» по показателям «Антигенная активность» и «Специфическая безопасность» в 2011 – 2012 годах

№ серии п/п, дата поступления на испытание	Наименование показателя	Требования НД	Результат исследования	
			препарат	ОСО 42-28-113-07
1 02.09.2011 г.	Антигенная активность	Среднегеометрическое титров вируснейтрализующих антител к вирусу вакцины в сыворотках крови белых крыс, иммунизированных внутривенно одной дозой вакцины, должен быть не менее 1:80	1:160	$4,7 \times 10^8$ ООЕ/мл
Специфическая безопасность Вакцина не должна содержать живого вируса вакцины Не содержит живого вируса вакцины				$4,9 \times 10^8$ ООЕ/мл
2 29.10.2012 г.	Антигенная активность	Среднегеометрическое титров вируснейтрализующих антител к вирусу вакцины в сыворотках крови белых крыс, иммунизированных внутривенно одной дозой вакцины, должен быть не менее 1:80	1:142	$4,8 \times 10^8$ ООЕ/мл
2 29.10.2012 г.	Специфическая безопасность	Вакцина не должна содержать живого вируса вакцины	Не содержит живого вируса вакцины	$3,8 \times 10^8$ ООЕ/мл

Рисунок 2.

Результаты средних значений показателя «Специфическая активность» препарата «Вакцина оспенная живая» в сравнении с ОСО 42-28-113-07 за 2012 год



Исследования специфической активности, антигенной активности и специфической безопасности препаратов для профилактики оспы с 2011 по 2012 год, приведены в таблице 5.

Результаты испытаний вакцины оспенной живой и ОСО по показателю «Специфическая активность» в 2012 году представлены на рисунке 2.

Среднее значение и стандартное отклонение показателя «Специфическая активность» производственных серий вакцин для профилактики оспы в 2011 по 2012 годам приведены в таблице 6.

На протяжении 2011 – 2012 годов препараты для профилактики оспы соответствовали требованиям НД по показателям: «Специфическая активность», «Антигенная активность» и «Специфическая безопасность». Специфическая активность ОСО 42-28-113-07 соответствовало заявленному ($4,73 \pm 0,7$) $\times 10^8$ ООЕ/мл.

В декабре 2012 года была проведена переаттестация ОСО. ОСО был присвоен аналогичный номер и изменен год переаттестации: 42-28-113-12. Значение показателя «Специфическая активность» ОСО при переаттестации составляло ($4,9 \pm 1,89$) $\times 10^8$ ООЕ/мл. Срок годности составил 3 года до очередного подтверждения аттестуемых характеристик.

В 2013 – 2014 годах с использованием ОСО 42-28-113-12 было исследовано 32 серии Вакци-

ны оспенной живой. Результаты представлены на рисунках 3, 4. Средние значения показателя «Специфическая активность» приведены в таблице 7.

Данные, представленные в таблице 7, подтверждают, соответствие вакцины оспенной живой требованиям НД по показателю «Специфическая активность». Показатель «Специфическая активность» ОСО 42-28-113-12 соответствовал заявленному значению ($4,9 \pm 1,89$) $\times 10^8$ ООЕ/мл, при этом минимальное значение составляло $2,35 \times 10^8$ ООЕ/мл, а максимальное – $7,3 \times 10^8$ ООЕ/мл. Такой разброс связан с колебаниями чувствительности куриных эмбрионов к вирусу осповакцины, что предусмотрено в инструкции по применению ОСО [12]. В данном случае проводится пересчет специфической активности препарата.

Суммарные значения показателя «Специфическая активность» за 8-летний период (2007 – 2014 г.) представлены в таблице 8.

Результаты испытаний (см. табл. 8) подтверждают, что на протяжении восьми лет препараты для профилактики оспы соответствовали требованиям НД по количественным характеристикам, а именно показателям: «Специфическая активность», «Антигенная активность». Значение показателя «Специфическая активность» ОСО находилось в пределах заявленного ($4,8 \pm 1,3$) $\times 10^8$ ООЕ/мл.

Таблица 6.

Специфическая активность производственных серий вакцины оспенной живой и ОСО 42-28-113-07 в 2011 – 2012 годах

Наименование	Наименование показателя	Требования НД	Результат исследования
«Вакцина оспенная живая (Вакцина оспенная)»	Специфическая активность	Не менее 1×10^8 ООЕ/мл и не более 2×10^9 ООЕ/мл	($2,78 \pm 1,6$) $\times 10^8$ ООЕ/мл, (n = 10)
ОСО 42-28-113-07	Специфическая активность	($4,8 \pm 0,21$) $\times 10^8$ ООЕ/мл	($4,73 \pm 0,7$) $\times 10^8$ ООЕ/мл, (n = 6)

Таблица 7.
Специфическая активность производственных серий вакцины оспенной живой и ОСО 42-28-113-12 в 2013 – 2014 годах

Наименование	Наименование показателя	Требования НД	Результат исследования
Вакцина оспенная живая	Специфическая активность	Не менее 1×10^8 ООЕ/мл и не более 2×10^9 ООЕ/мл	$(2,7 \pm 1,2) \times 10^8$ ООЕ/мл (n = 32)
ОСО 42-28-113-12	Специфическая активность	$(4,9 \pm 1,89) \times 10^8$ ООЕ/мл	$(5,3 \pm 1,6) \times 10^8$ ООЕ/мл (n = 11)

Рисунок 3.
Результаты средних значений показателя «Специфическая активность» препарата «Вакцина оспенная живая» в сравнении с ОСО 42-28-113-12 за 2013 год



Рисунок 4.
Результаты средних значений показателя «Специфическая активность» препарата «Вакцина оспенная живая» в сравнении с ОСО 42-28-113-12 за 2014 год



На протяжении всего периода исследования (с 2007 г. по 2015 г.) препараты для профилактики оспы соответствовали требованиям НД по всем

показателям спецификации. Не наблюдалось ни одного несоответствия препаратов требованиям НД при испытаниях по дополнительным аттестован-

Таблица 8.

Специфическая активность производственных серий вакцины оспенной живой и ОСО за 8-летний период (2007 – 2014 гг.)

Наименование	Наименование показателя	Требования НД	Результат исследования
Вакцина оспенная живая	Специфическая активность	Не менее 1×10^8 ООЕ/мл и не более 2×10^9 ООЕ/мл	$(2,75 \pm 1,3) \times 10^8$ ООЕ/мл (n = 46)
ОСО 42-28-113-12	Специфическая активность	$(4,9 \pm 1,89) \times 10^8$ ООЕ/мл	$(4,8 \pm 1,3) \times 10^8$ ООЕ/мл (n = 15)

ным характеристикам ОСО, а именно по показателям: «Некротическая активность» и «Подлинность (специфичность)».

Выводы

1. Результаты проведенной в 2015 году переаттестации ОСО свидетельствуют о том, что он стабилен при хранении. Показатели, характеризующие аттестуемые и дополнительные характеристики не изменились и соответствуют предъявляемым к данному ОСО требованиям. Срок действия ОСО активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины был продлен на 3 года. По результатам пере-

аттестации оформлен паспорт и утверждена инструкция по применению Отраслевого стандартного образца ОСО 42-28-113-2015.

2. Подтверждена возможность использования ОСО при испытании Вакцины оспенной живой и ОспаВир по показателям: «Антигенная активность», «Подлинность» и «Специфическая безопасность».
3. Исследования количественных характеристик (специфическая активность и антигенная активность) за 8-летний период (2007 – 2014 гг.) подтвердил соответствие препаратов для профилактики оспы требованиям НД.

Литература

1. Научный обзор исследований вируса натуральной оспы, 1999 – 2010 гг. WHO/HSE/GAR/BDP/2010.3. Декабрь 2010 г.
2. Fenner F., Henderson D.A., Arita I., Jezek I., Ladnyi Z., Danilovich I. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988.
3. Максютов Р.А., Гаврилова Е.В., Щелкунов С.Н. Разработка современных противооспенных вакцин. Вопросы вирусологии. 2011; Том 56, 6: 4 – 8.
4. Перекрест В.В., Мовсесянц А.А., Мухачева А.В., Шевцов В.А., Шведов Д.В., Борисевич И.В. Препараты для специфической профилактики натуральной оспы, зарегистрированные в Российской Федерации. Биопрепараты. 2013; 2: 4 – 13.
5. Мухачева А.В., Перекрест В.В., Мовсесянц А.А., Саркисян К.А., Фадейкина О.В. и др. Результаты переаттестации Отраслевого стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины. Биопрепараты. 2013; 4: 34 – 40.
6. Борисевич И.В., Петухов В.Г., Мовсесянц А.А., Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б. и др. Стандартные образцы для контроля качества медицинских иммунобиологических препаратов. Тезисы Всероссийской научно – практической конференции «Вакцинология 2010. Совершенствование иммунобиологических средств профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней». Москва: 2010: 27 – 28.
7. WHO Expert Committee on biological standardization. Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards. WHO Technical Report Series 932, annex 2. Geneva: 2004: 73 – 131, 137.
8. WHO International Standard The 1st International Standard for Smallpox Vaccine NIBSC code: SMV Instructions for use (Version 4.0, Dated 18/03/2008).
9. Свидетельство на отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины (ОСО 42 – 28 – 113 – 07).
10. ФСР Р N 001141/01 на препарат «Вакцина оспенная живая (Вакцина оспенная), лиофилизат для приготовления раствора для внутрикожного введения и кожного скарификационного нанесения в комплекте с растворителем».
11. ФСР Р N 001038/01 на препарат «ТЭОВак (вакцина оспенная эмбриональная живая)», таблетки покрытые оболочкой делимые.
12. ЛСР – 005198/08 на препарат «ОспаВир. Вакцина оспенная инактивированная, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения».
13. Инструкция по применению. «Отраслевой стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины (ОСО 42 – 28 – 113 – 12). Москва. 2012. ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России.

References

1. Scientific review of variola virus research, 1999–2010 gg. WHO/HSE/GAR/BDP/2010.3. Dekabr' 2010 g.
2. Fenner F., Henderson D.A., Arita I. et al. Smallpox and its eradication. Geneva: World Health Organization, 1988.
3. Maksjutov R.A., Gavrilova E.V., Shchelukunov S.N. Development of modern smallpox vaccines. Voprosy virusologii. [Problems of Virology]. 2011; 56 (6): 4 – 8 (in Russian).
4. Perekrest V.V., Movsesyants A.A., Mukhacheva A.V., Shevtsov V.A., Shvedov D.V., Borisevich I.V. Preparations for specific prevention of smallpox, registered in the Russian Federation. BIOpreparati. [BIOpreparations]. 2013; 2: 4 – 13.
5. Mukhacheva A.V., Perekrest V.V., Movsesyants A.A., Sargsyan K.A., Fadeykina O.V. et al. The results of re-certification of the Industry standard sample activity, specificity and necrotic activity of smallpox vaccine. BIOpreparati. [BIOpreparations]. 2013; 4: 34 – 40.
6. Borisevich I.V., Petukhov V.G., Movsesyants A.A., Volkova R.A., Fadeykina O.V., Ustinnikova O.B. et al. The standard samples for quality control of medical immunobiological preparations. Abstracts of the All-Russia scientific-practical conference «Vaccinology 2010. Immunobiological means of prevention, diagnosis and treatment of infectious diseases». Moscow: 2010: 27 – 28.
7. WHO Expert Committee on biological standardization. Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards. – Geneva, 2004; WHO Technical Report Series 932, annex 2; 73 – 131, 137.
8. WHO International Standard The 1st International Standard for Smallpox Vaccine NIBSC code: SMV Instructions for use (Version 4.0, Dated 18/03/2008).
9. The certificate on the industry standard patent of activity, specificity and necrotic activity of smallpox vaccine (CCA 42 - 28 - 113 - 07).
10. Official item of Company P N 001141/01 on drug «Smallpox vaccine live (smallpox vaccine), lyophilisate for solution for intradermal and epidermal scarification application together with the solvent».
11. Official item of Company P N 001038/01 on drug «TEOVak (smallpox vaccine embryonic live)», divisible tablets coated shell.
12. Registration number LSR-005198/08 on drug «OspaVir. Smallpox vaccine, inactivated, lyophilisates for solution for subcutaneous administration».
13. Instructions for use. «Industry standard pattern of activity, specificity and necrotic activity of smallpox vaccine (CCA 42 - 28 - 113 - 12). Moscow; 2012. Scientific Center for Expertise of Medical Products of Russian Ministry of Healthcare.