

УДК 615.072:615.371:619.9

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-187-195>

Научная статья | Scientific article



## Разработка технологии приготовления сухой питательной среды для производства сибиреязвенной вакцины

Д.А. Шаров, А.А. Лещенко ✉, Е.А. Коваленко, Д.В. Боровской, В.В. Крупин, С.В. Багин, Д.А. Мохов, А.Г. Лазыкин, И.В. Косенков, А.Н. Мошков

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), Октябрьский проспект, д. 119, Киров, 610000, Российская Федерация

✉ Лещенко Андрей Анатольевич; [23527@mil.ru](mailto:23527@mil.ru)

### Резюме

В настоящее время при производстве вакцины сибиреязвенной живой для глубинного выращивания штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1 используется жидкая питательная среда, недостатками которой являются малый срок годности — не более одного месяца и узкий диапазон температуры ее хранения: от 2 до 8 °С. Сухие питательные среды (ПС) обладают рядом неоспоримых преимуществ: их можно хранить от 2 до 5 лет при температуре от 2 до 30 °С без консервантов; они транспортабельны, удобны в применении и стандартны в сохранении свойств. **Цель работы:** разработка технологии приготовления сухой ПС для производства сибиреязвенной вакцины. **Материалы и методы:** в исследованиях использовали вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1 и ПС, состоящую из смеси ферментативного гидролизата казеина и раствора обработанного кукурузного экстракта в соотношении 70 и 30%, для культивирования сибиреязвенного микроба. Обезвоживание ПС осуществляли на установке распылительного типа. Экспериментальные серии сухой ПС оценивали по физико-химическим показателям на соответствие требованиям нормативной документации. Срок годности определяли методом «ускоренного старения». С использованием сухой ПС готовили вакцину сибиреязвенную живую и проводили оценку показателей качества препарата на соответствие требованиям нормативной документации. **Результаты:** разработана технология приготовления сухой ПС (скорость подачи ПС на сушку от 20 до 25 дм<sup>3</sup>/ч, давление сжатого воздуха в распылителе 0,02 МПа, температура воздуха на входе в сушильную камеру от 118 до 122 °С, температура воздуха на выходе — от 85 до 90 °С). По этой технологии получены 3 серии экспериментальной сухой ПС. Показано, что разработанная технология воспроизводима, а экспериментальные серии сухой ПС по изученным показателям отвечают предъявляемым требованиям. Срок годности сухой ПС, установленный с использованием метода «ускоренного старения», не менее 3 лет при температуре хранения от 2 до 30 °С. Экспериментально подтверждена возможность использования сухой ПС в технологии производства сибиреязвенной вакцины. Приготовленный препарат по основным показателям качества отвечает требованиям нормативной документации. **Выводы:** разработанная технология позволяет получить сухую ПС стандартную с увеличенным сроком хранения и удобную при использовании в производстве вакцины сибиреязвенной живой.

**Ключевые слова:** технология; ферментативный гидролизат казеина; кукурузный экстракт; питательная среда; сибиреязвенная вакцина; сушильная установка

**Для цитирования:** Шаров Д.А., Лещенко А.А., Коваленко Е.А., Боровской Д.В., Крупин В.В., Багин С.В., Мохов Д.А., Лазыкин А.Г., Косенков И.В., Мошков А.Н. Разработка технологии приготовления сухой питательной среды для производства сибиреязвенной вакцины. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2022;22(2):187–195. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-187-195>

© Д.А. Шаров, А.А. Лещенко, Е.А. Коваленко, Д.В. Боровской, В.В. Крупин, С.В. Багин, Д.А. Мохов, А.Г. Лазыкин, И.В. Косенков, А.Н. Мошков, 2022

## Development of a technology for the preparation of a dry nutrient medium for anthrax vaccine production

D.A. Sharov, A.A. Leshchenko ✉, E.A. Kovalenko, D.V. Borovskoy, V.V. Krupin, S.V. Bagin, D.A. Mokhov, A.G. Lazykin, I.V. Kosenkov, A.N. Moshkov

Branch Office of the 48th Central Scientific Research Institute (Kirov), 119 Oktyabrsky Ave, Kirov 610000, Russian Federation

✉ Andrey A. Leshchenko; [23527@mil.ru](mailto:23527@mil.ru)

### Abstract

Currently, submerged cultivation of the *Bacillus anthracis* STI-1 strain for live anthrax vaccine production requires liquid nutrient media, which have disadvantages of a short shelf life (no more than one month) and a narrow range of storage temperatures (2–8 °C). Dry media, in contrast, have a number of indisputable advantages: such media are transportable and easy to use, have a standard capability to retain properties, and can be stored without preservatives at 2–30 °C for 2–5 years. **The aim of this work** was to develop a technology for the preparation of a dry nutrient medium for anthrax vaccine production. **Materials and methods:** The study used the *Bacillus anthracis* STI-1 vaccine strain and a nutrient medium for its cultivation, containing a 70:30 mixture of an enzymatic digest of casein and a pre-processed corn extract solution. Drying of the nutrient medium was carried out on a spray-drying unit. The authors evaluated physicochemical parameters of experimental medium batches. The shelf life was determined by an accelerated stability study. The dry nutrient medium was used to produce a live anthrax vaccine. Quality attributes of the vaccine were assessed for compliance with regulatory requirements. **Results:** The authors developed the dry media production technology. According to it, the liquid nutrient medium is fed to the drying unit at a rate of 20–25 dm<sup>3</sup>/h. The spray air pressure is 0.02 MPa. Temperatures at the drying chamber inlet and outlet are 118–122 °C and 85–90 °C, respectively. The technology was used to obtain 3 experimental batches of the dry medium. The study results demonstrate that the technology is reproducible, and the tested quality attributes of experimental medium batches are consistent with the requirements. According to the accelerated stability study, the shelf life of the dry nutrient medium at 2–30 °C is at least 3 years. Experiments demonstrated the possibility of using the dry nutrient medium for live anthrax vaccine production. Critical quality attributes of the vaccine obtained with the medium met regulatory requirements. **Conclusions:** The developed technology allows for the production of a standard dry nutrient medium with a prolonged shelf life, which is convenient for live anthrax vaccine production.

**Key words:** production technology; enzymatic digest of casein; corn extract; nutrient medium; anthrax vaccine; drying unit

**For citation:** Sharov D.A., Leshchenko A.A., Kovalenko E.A., Borovskoy D.V., Krupin V.V., Bagin S.V., Mokhov D.A., Lazykin A.G., Kosenkov I.V., Moshkov A.N. Development of a technology for the preparation of a dry nutrient medium for anthrax vaccine production. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2022;22(2):187–195. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-187-195>

### Введение

Сибирская язва относится к особо опасным инфекционным заболеваниям, которое встречается как в нашей стране, так и за рубежом<sup>1</sup>. Одним из путей осуществления контроля за сибирской

язвой в Российской Федерации является совершенствование производства средств специфической профилактики надлежащего качества [1]. В Российской Федерации для профилактики сибирской язвы в соответствии с национальным

<sup>1</sup> О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2021. [https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/5fa/gd-seb\\_02.06-s-podpisyu\\_.pdf](https://www.rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/5fa/gd-seb_02.06-s-podpisyu_.pdf)

календарем прививок по эпидемическим показателям используется вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения, выпускаемая ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России<sup>2</sup> [2].

Анализ технологии производства вакцины показал, что одной из наиболее критических стадий, влияющих на качество конечного продукта и стабильность выпуска препарата, является стадия приготовления питательной среды (ПС).

Для получения нативной споровой культуры *Bacillus anthracis* вакцинного штамма СТИ-1 используется жидкая ПС, содержащая в качестве питательной основы ферментативный гидролизат казеина (ФГК) и раствор обработанного кукурузного экстракта (КЭ). Приготовление ПС осуществляется в течение 48 ч перед глубинным культивированием на специально оборудованном участке. Несмотря на то что ПС обеспечивает питательные потребности сибиреязвенного микроба, для нее характерны отдельные недостатки, основными из которых являются малый срок годности – не более одного месяца и узкий диапазон температур хранения: от 2 до 8 °С<sup>3</sup>.

Современный рынок микробиологических питательных основ и сред<sup>4</sup> представлен в подавляющем своем большинстве сухими формами препаратов<sup>5</sup>. Сухие ПС в отличие от жидких обладают целым рядом неоспоримых преимуществ: их можно хранить от 2 до 5 лет при температуре от 2 до 30 °С без консервантов; такие среды транспортабельны, удобны в применении и стандартны в сохранении физико-химических и биологических свойств<sup>6</sup>.

Все это определяет актуальность исследований по разработке технологии сухой формы ПС, внедрение которой в практику позволит повысить стабильность препарата и обеспечить непрерывность выпуска вакцины.

Цель работы – разработка технологии приготовления сухой ПС для производства сибиреязвенной вакцины.

## Материалы и методы

### Материалы:

- в исследованиях использовали вакцинный штамм *Bacillus anthracis* СТИ-1. Штамм получен из Государственной коллекции возбудителей бактериальных инфекций, используемых для разработки и оценки эффективности медицинских средств биологической защиты, филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров);
- жидкая ПС для культивирования сибиреязвенного микроба, состоящая из смеси ферментативного гидролизата казеина и раствора обработанного кукурузного экстракта в соотношении 70 и 30%.

Ферментативный гидролизат казеина и обработанный КЭ приготовлены на производственной базе организации и использованы в течение срока их годности.

### Методы

Обезвоживание ПС, состоящей из смеси ФГК и раствора обработанного КЭ, осуществляли на установке распылительного типа А1-ФМУ (завод «Продмаш», г. Донецк).

Готовую сухую ПС оценивали по следующим физико-химическим показателям: «Внешний вид», «Растворимость», «Прозрачность и цветность», «Содержание общего азота и аминного азота», «Концентрация ионов водорода», «Потеря в массе при высушивании»<sup>7</sup>.

Предварительную оценку срока годности сухой ПС проводили методом «ускоренного старения»<sup>8</sup>. Метод «ускоренного старения» заключался в выдерживании испытуемой ПС при температурах, превышающих среднюю температуру хранения, с последующим изучением показателей ее качества. Срок годности вычисляли по формуле (1):

$$C = K \times C_3 = 2 \frac{t_3 - 20}{2} \times C_3, \quad (1)$$

где  $C$  – срок хранения (годности) при стандартных условиях, мес.;  $K$  – коэффициент соответствия

<sup>2</sup> Государственный реестр лекарственных средств (по состоянию на 06.05.2022). <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>

<sup>3</sup> Промышленный регламент ПР № 08461522-26-19 на производство вакцины сибиреязвенной живой лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения, накожного скарификационного нанесения. Утв. нач. НИЦ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров; 2019.

<sup>4</sup> Справочник по микробиологии Мерск, 2021.

<sup>5</sup> Питательные среды. Каталог продукции. <https://sredy-obolensk.ru/produkcija>

<sup>6</sup> Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.08.2020 № 100 «О Фармакопее Евразийского экономического союза».

<sup>7</sup> Методические указания МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2008.

<sup>8</sup> Там же.

срока экспериментального хранения при повышенной температуре сроку хранения при стандартной температуре, равной 20 °С;  $C_3$  – срок экспериментального хранения, мес.;  $2$  – принятое значение температурного коэффициента скорости химических реакций;  $t_3$  – температура экспериментального хранения, °С.

За срок экспериментального хранения ( $C_3$ ) принимали максимальное время хранения препарата при повышенных температурах, в течение которого все показатели качества находились в допустимых пределах. Срок годности препарата определяли как величину, рассчитанную по формуле (1) за вычетом 3 месяцев.

Сибиреязвенную вакцину готовили с использованием экспериментальной сухой ПС в соответствии с промышленным регламентом ПР 08461522-11-19<sup>9</sup>.

Изучение физико-химических и иммунологических свойств приготовленной вакцины сибиреязвенной живой выполняли методами, изложенными в нормативной документации (НД)<sup>10</sup>.

Испытания специфической безопасности и иммуногенности вакцины выполняли на лабораторных животных. Эксперименты проводили на морских свинках массой 275±25 г и кроликах массой 2–2,5 кг. В работе использовали здоровых животных, полученных из питомника филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров). Морских свинок и кроликов выдерживали на стандартном рационе с достаточным количеством воды в течение 10 суток. Эксперименты на животных осуществляли в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010<sup>11</sup>.

Достоверность результатов оценивали с использованием критерия Стьюдента при уровне доверительной вероятности 0,95 [3].

## Результаты и обсуждение

При разработке технологии приготовления ПС с улучшенными свойствами для производства сибиреязвенной вакцины осуществляли выбор способа и условий обезвоживания жидкой ПС, содержащей ФГК (70%) и раствор обработанного КЭ (30%).

При всем многообразии существующих способов обезвоживания и их аппаратного оформления наиболее производительным и эко-

номически целесообразным является сушка распылением. Специфические особенности данного процесса обезвоживания обуславливают возможность его использования для большинства термолабильных продуктов, и в том числе микробиологических питательных основ и сред [4].

Высушивание жидкой ПС проводили на распылительной сушильной установке типа А1-ФМУ с виброкипящим слоем гранул инертного материала.

В ходе отработки процесса были выбраны следующие технологические параметры: скорость подачи ПС на сушку от 20 до 25 дм<sup>3</sup>/ч, давление сжатого воздуха в распылителе 0,02 МПа, температура воздуха на входе в сушильную камеру от 118 до 122 °С, температура воздуха на выходе из сушильной камеры от 85 до 90 °С. Используя данный режим обезвоживания, получили три экспериментальные серии ПС. Поскольку сухая ПС для производства вакцины сибиреязвенной живой разрабатывалась впервые, то при оценке физико-химических показателей экспериментальных серий руководствовались требованиями МУК 4.2.2316-08 и ПР № 08461522-26-19. Результаты испытаний экспериментальных серий сухих ПС по физико-химическим показателям представлены в таблице 1.

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что разработанная технология воспроизводима, а экспериментальные серии сухой ПС по изученным показателям отвечают предъявляемым требованиям.

Далее методом «ускоренного старения» определяли срок годности сухой ПС. Исследовались три экспериментальные серии сухой ПС, которые хранили в термостате при температуре, превышающей рекомендованную на 30 °С (50 °С). Перерасчет срока экспериментального хранения на срок годности сухой ПС при стандартных условиях выполняли по формуле (1).

В таблице 2 представлены результаты оценки физико-химических характеристик трех серий сухой ПС, хранившейся в условиях повышенной температуры.

Из представленных данных (табл. 2) следует, что по физико-химическим показателям образцы ПС, хранившиеся в течение 5 мес. при температуре 50 °С, сохраняют свою стабильность, а образцы с 6- и 7-месячным сроком хранения

<sup>9</sup> Промышленный регламент ПР № 08461522-26-19 на производство вакцины сибиреязвенной живой лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения, накожного скарификационного нанесения. Утв. нач. НИЦ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров; 2019.

<sup>10</sup> Нормативная документация Р N001273/01-161019 Вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения.

<sup>11</sup> Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>

**Таблица 1.** Результаты испытаний экспериментальных серий сухой питательной среды по физико-химическим показателям  
**Table 1.** Results of testing experimental batches of the dry nutrient medium for physical and chemical parameters

| Наименование показателя,<br>ед. измерения<br><i>Parameter, measurement<br/>units</i>   | Требование НД<br><i>Regulatory requirements</i>   | Значение показателя для серии<br><i>Test results for batch No.</i>  |      |      |
|--|---|---|------|------|
|  |   | 1   | 2    | 3    |
| Внешний вид <sup>а</sup><br><i>Appearance<sup>a</sup></i>  | Должно указываться физическое состояние, цветность<br><i>The physical form and colour of the medium should be indicated</i>   | Порошок, цвет коричневый<br><i>A brown powder</i>   |      |      |
| Растворимость <sup>а</sup><br><i>Solubility<sup>a</sup></i>  | Количество препарата (г), необходимое для приготовления конкретной серии ПС, должно растворяться при перемешивании и, если необходимо, при кипячении в течение 2–3 мин<br><i>The amount (g) required for a batch of the nutrient medium should dissolve with stirring and, if necessary, boiling within 2–3 min</i> | ПС в количестве 2 г растворяется в 98 см <sup>3</sup> дистиллированной воды при кипячении в течение 1 мин<br><i>2 g of the nutrient medium dissolves in 98 cm<sup>3</sup> of boiling distilled water within 1 min</i> |      |      |
| Прозрачность и цветность <sup>а</sup><br><i>Clarity and colour of solution<sup>a</sup></i>   | Раствор ПС должен быть прозрачным, с указанием оттенка перед основным цветом<br><i>The nutrient medium solution should be clear. A shade is indicated before the main colour</i>  | 2% раствор ПС прозрачный, желто-коричневого цвета<br><i>2% solution of the nutrient medium is clear and yellow-brown</i>  |      |      |
| Потеря в массе при высушивании, % <sup>а</sup><br><i>Loss on drying, %<sup>a</sup></i>   | 5,0, не более<br><i>No more than 5.0</i>  | 2,8   | 2,9  | 2,9  |
| Содержание общего азота, % <sup>а, б</sup><br><i>Total nitrogen, %<sup>a, b</sup></i>  | От 8,5 до 11,5<br><i>8.5 to 11.5</i>  | 9,6   | 10,6 | 10,2 |
| Содержание аминного азота, % <sup>а, б</sup><br><i>Amino-nitrogen, %<sup>a, b</sup></i>  | От 2,5 до 4,5<br><i>2.5 to 4.5</i>  | 3,3   | 4,2  | 4,4  |
| Концентрация ионов водорода 2% водного раствора, ед. рН <sup>б</sup><br><i>Concentration of hydrogen ions in 2% aqueous solution, pH units<sup>b</sup></i> | От 7,4 до 8,0<br><i>7.4 to 8.0</i>  | 7,8   | 7,8  | 7,9  |

*Примечание.* НД – нормативная документация; ПС – питательная среда.

<sup>а</sup> Методические указания МУК 4.2.2316-08. Методы контроля бактериологических питательных сред. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2008.

<sup>б</sup> Промышленный регламент ПР № 08461522-26-19 на производство вакцины сибиреязвенной живой лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения, кожного скарификационного нанесения. Утв. нач. НИЦ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров; 2019.

<sup>а</sup> Guidelines MUK 4.2.2316-08. Methods for controlling bacteriological culture media. Moscow: Federal Centre for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2008.

<sup>б</sup> Industrial regulation PR No. 08461522-26-19 for the production of lyophilised live anthrax vaccines for suspension for subcutaneous administration or scarification. Approved by the Head of the Branch Office of the 48th Central Scientific Research Institute, Kirov; 2019.

**Таблица 2.** Физико-химические показатели экспериментальных серий сухой питательной среды, хранившихся при повышенной температуре

**Table 2.** Physicochemical parameters of the experimental batches of the dry nutrient medium, stored at elevated temperatures

| Наименование показателя, ед. измерения<br><i>Parameter, measurement units</i>  | Требование НД<br><i>Regulatory requirements</i>   | Номер серии<br><i>Batch number</i> | Срок экспериментального хранения / Срок хранения при стандартных условиях, мес.<br><i>Experimental shelf life / Shelf life under standard conditions, months</i>  |      |      |   |      |      |
|--|---|------------------------------------|---|------|------|---|------|------|
|  |   |                                    | 0/0   | 3/24 | 4/32 | 5/40  | 6/48 | 7/56 |
| Внешний вид <sup>а</sup><br><i>Appearance<sup>а</sup></i>  | Должны указываться физическое состояние, цветность<br><i>The physical form and colour of the medium should be indicated</i>   | 1                                  | Мелкодисперсный гомогенный порошок коричневого цвета<br><i>A fine homogeneous brown powder</i>  |      |      |   |      |      |
|  |   | 2                                  |   |      |      |   |      |      |
|  |   | 3                                  |   |      |      |   |      |      |
| Растворимость <sup>а</sup><br><i>Solubility<sup>а</sup></i>  | Количество препарата (г), необходимое для приготовления конкретной серии ПС, должно растворяться при перемешивании и, если необходимо, при кипячении в течение 2–3 мин<br><i>The amount (g) required for a batch of the nutrient medium should dissolve with stirring and, if necessary, boiling within 2–3 min</i> | 1                                  | Препарат в количестве 2 г растворяется в 98 см <sup>3</sup> дистиллированной воды при кипячении в течение 1 мин<br><i>2 g of the nutrient medium dissolves in 98 cm<sup>3</sup> of boiling distilled water within 1 min</i> |      |      | Препарат в количестве 2 г растворяется в 98 см <sup>3</sup> дистиллированной воды при кипячении в течение 4 мин<br><i>2 g of the nutrient medium dissolves in 98 cm<sup>3</sup> of boiling distilled water within 4 min</i> |      |      |
|  |   | 2                                  |   |      |      |   |      |      |
|  |   | 3                                  |   |      |      |   |      |      |
| Потеря в массе при высушивании, % <sup>а</sup><br><i>Loss on drying, %<sup>а</sup></i>   | 5,0, не более<br><i>No more than 5.0</i>  | 1                                  | 2,8   | 3,2  | 3,3  | 3,7   | 4,0  | 4,0  |
|  |   | 2                                  | 2,9   | 3,2  | 3,4  | 3,6   | 3,9  | 4,0  |
|  |   | 3                                  | 2,9   | 3,2  | 3,3  | 3,6   | 4,0  | 4,1  |
| Содержание общего азота, % <sup>б</sup><br><i>Total nitrogen, %<sup>б</sup></i>  | От 8,5 до 11,5<br><i>8.5 to 11.5</i>  | 1                                  | 9,6   | 9,5  | 9,6  | 9,6   | 9,6  | 9,6  |
|  |   | 2                                  | 10,6  | 10,6 | 10,5 | 10,5  | 10,6 | 10,6 |
|  |   | 3                                  | 10,2  | 10,1 | 10,1 | 10,1  | 10,2 | 10,2 |
| Содержание аминного азота, % <sup>б</sup><br><i>Amino-nitrogen, %<sup>б</sup></i>  | От 2,5 до 4,5<br><i>2.5 to 4.5</i>  | 1                                  | 3,3   | 3,3  | 3,1  | 3,0   | 3,0  | 3,0  |
|  |   | 2                                  | 4,2   | 4,2  | 4,1  | 4,2   | 4,1  | 4,2  |
|  |   | 3                                  | 4,4   | 4,3  | 4,4  | 4,4   | 4,3  | 4,4  |
| Концентрация ионов водорода 2% водного раствора, ед. pH <sup>б</sup><br><i>Concentration of hydrogen ions in 2% aqueous solution, pH units<sup>б</sup></i> | От 7,4 до 8,0<br><i>7.4 to 8.0</i>  | 1                                  | 7,8   | 7,8  | 7,7  | 7,7   | 7,1  | 7,0  |
|  |   | 2                                  | 7,8   | 7,8  | 7,7  | 7,6   | 6,9  | 6,8  |
|  |   | 3                                  | 7,9   | 7,8  | 7,7  | 7,6   | 6,9  | 6,8  |

*Примечание.* НД – нормативная документация; ПС – питательная среда.

<sup>а</sup> Методические указания МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2008.

<sup>б</sup> Промышленный регламент ПР № 08461522-26-19 на производство вакцины сибиреязвенной живой лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения, накожного скарификационного нанесения. Утв. нач. НИЦ «48 ЦНИИ» Минобороны России, г. Киров; 2019.

<sup>а</sup> Guidelines MUK 4.2.2316-08. Methods for controlling bacteriological culture media. Moscow: Federal Centre for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадzor; 2008.

<sup>б</sup> Industrial regulation PR No. 08461522-26-19 for the production of lyophilised live anthrax vaccines for suspension for subcutaneous administration or scarification. Approved by the Head of the Branch Office of the 48th Central Scientific Research Institute, Kirov; 2019.



**Таблица 3.** Основные показатели качества серий вакцины сибиреязвенной живой, полученной с использованием экспериментальных серий сухой питательной среды

**Table 3.** Main quality attributes of live anthrax vaccine batches obtained using experimental batches of the dry nutrient medium

| Наименование показателя,<br>ед. измерения<br><i>Parameter, measurement<br/>units</i>                     | Требование нормативной документации<br><i>Regulatory requirements</i>   | Значение показателя для серии<br><i>Test results for batch No.</i>  |  |  |
|--|---|---|--|--|
|  |   | 1   | 2  | 3  |
| Описание<br><i>Description</i>   | Пористая масса серовато-белого или желтовато-белого цвета с коричневатым оттенком.<br>Восстановленный препарат – непрозрачная гомогенная суспензия серовато-белого или желтовато-белого цвета без посторонних включений<br><i>The lyophilised vaccine should be a porous grayish-white or yellowish-white mass with a brownish tint.<br/>The reconstituted vaccine should be an opaque homogeneous grayish-white or yellowish-white suspension free of foreign matter</i> | Пористая масса желтовато-белого цвета с коричневатым оттенком.<br>Восстановленный препарат – непрозрачная гомогенная суспензия серовато-белого цвета без посторонних включений<br><i>The lyophilised vaccine is a porous grayish-white or yellowish-white mass with a brownish tint.<br/>The reconstituted vaccine is an opaque homogeneous greyish-white suspension free of foreign matter</i> |  |  |
| Подлинность<br><i>Identification</i>   | Должна содержать чистую культуру вакцинного штамма <i>B. anthracis</i> СТИ-1<br><i>The vaccine should contain a pure culture of the B. anthracis STI-1 vaccine strain</i>   | Содержит чистую культуру вакцинного штамма <i>B. anthracis</i> СТИ-1<br><i>The vaccine contains a pure culture of the B. anthracis STI-1 vaccine strain</i>   |  |  |
| Время растворения, мин<br><i>Dissolution time, min</i>   | 5,0, не более<br><i>No more than 5.0</i>  | 3   | 3  | 2  |
| Седиментативная устойчивость, мин<br><i>Sedimentation stability, min</i>                                 | Суспензия не должна расслаиваться в течение 5 мин<br><i>The suspension should not separate within 5 min</i>   | Суспензия не расслаивается в течение 5 мин<br><i>The suspension does not separate within 5 min</i>  |  |  |
| рН, ед. рН<br><i>pH, pH units</i>  | От 6,8 до 8,3<br><i>6.8 to 8.3</i>  | 7,8   | 7,9  | 7,8  |
| Потеря в массе при высушивании, %<br><i>Loss on drying, %</i>  | 5,0, не более<br><i>No more than 5.0</i>  | 2,2   | 2,4  | 2,8  |
| Средняя масса и отклонение от средней массы, %<br><i>Average mass and deviation from average mass, %</i> | 5,0, не более<br><i>No more than 5.0</i>  | 1,9   | 2,1  | 1,9  |
| Отсутствие посторонних бактерий и грибов<br><i>Bacteria and fungi</i>                                    | Не должна содержать посторонних бактерий и грибов<br><i>The vaccine should not contain contaminating bacteria and fungi</i>   | Вакцина не содержит посторонних бактерий и грибов<br><i>The vaccine does not contain contaminating bacteria and fungi</i>   |  |  |
| Специфическая безопасность<br><i>Specific safety</i>   | Должна быть безопасной<br><i>The vaccine should be safe</i>   | Вакцина безопасна<br><i>The vaccine is safe</i>   |  |  |
| Иммуногенность для морских свинок<br><i>Immunogenicity for guinea pigs</i>                               | Индекс иммунитета должен быть не менее 10000<br><i>The immunity index should be at least 10000</i>  | Индекс иммунитета 251000<br><i>The immunity index is 251000</i>   | Индекс иммунитета 398000<br><i>The immunity index is 398000</i>    | Индекс иммунитета 630000<br><i>The immunity index is 630000</i>    |
| Специфическая активность:<br><i>Potency:</i>   |   |   |  |  |
| 1. Общая концентрация спор<br><i>1. Total spores</i>   | 4–6 млрд спор в ампуле<br><i>4–6 billion per ampoule</i>  | 5,1 млрд спор в ампуле<br><i>5.1 billion per ampoule</i>  | 5,3 млрд спор в ампуле<br><i>5.3 billion per ampoule</i>           | 4,8 млрд спор в ампуле<br><i>4.8 billion per ampoule</i>           |
| 2. Количество живых спор<br><i>2. Live spores</i>  | Не менее 40% от общей концентрации<br><i>Not less than 40% of the total concentration</i>   | 53% от общей концентрации<br><i>53% of the total concentration</i>  | 62% от общей концентрации<br><i>62% of the total concentration</i> | 67% от общей концентрации<br><i>67% of the total concentration</i> |

не соответствуют требованиям НД по показателям растворимости и концентрации ионов водорода. Исходя из этого расчетный срок годности сухой ПС составил 36 мес.

На основе экспериментальных серий сухой ПС, хранившихся в течение 5 мес. при температуре 50 °С, были приготовлены три серии вакцины сибиреязвенной живой и проведена оценка показателей качества препаратов на соответствие требованиям НД<sup>12</sup>. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Все серии вакцины сибиреязвенной живой (табл. 3), приготовленные с использованием экспериментальных серий сухой ПС, хранившихся 5 мес. при температуре 50 °С, по основным показателям качества отвечают требованиям НД.

Таким образом, процесс распылительного обезвоживания позволяет приготовить сухую ПС на основе ФГК и КЭ, удовлетворяющую требованиям НД. Приготовленная таким образом сухая ПС обладает увеличенным сроком хранения и удобна

при использовании в производстве вакцины сибиреязвенной живой. На разработанную технологию получения сухой ПС получен патент [5].

## Заключение

Разработанная технология распылительного обезвоживания питательной среды со следующими параметрами: скорость подачи питательной среды на сушку от 20 до 25 дм<sup>3</sup>/ч, давление сжатого воздуха в распылителе 0,02 МПа, температура воздуха на входе в сушильную камеру от 118 до 122 °С, температура воздуха на выходе от 85 до 90 °С позволяет получить сухую питательную среду, сохраняющую свои свойства при температуре от 2 до 30 °С в течение 3 лет.

Дальнейшие исследования целесообразно направить на разработку гранулированной формы питательной среды как более технологичной и удобной в производстве вакцины сибиреязвенной живой.

## Литература/References

1. Попова АЮ, Ежлова ЕБ, Демина ЮВ, Куличенко АН, Рязанова АГ, Буравцева НП и др. Пути совершенствования эпидемиологического надзора и контроля за сибирской язвой в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017;(1):84–8. [Popova AYU, Ezhlova EB, Demina YuV, Kulichenko AN, Ryzanova AG, Buravtseva NP, et al. Ways to improve the epidemiological surveillance and control of anthrax in the Russian Federation. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017;(1):84–8 (In Russ.)) <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-1-84-88>
2. Саяпина ЛВ, Бондарев ВП, Олефир ЮВ. Современное состояние вакцинопрофилактики особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(2):107–10. [Sayapina LV, Bondarev VP, Olefir YuV. Current state of the vaccine prophylaxis of particularly dangerous infections. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(2):107–10 (In Russ.)) <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-2-107-110>
3. Лакин ГФ. *Биометрия*. М.: Высшая школа; 1990. [Lakin GF. *Biometrics*. Moscow: High School; 1990 (In Russ.))
4. Сазыкин ЮЮ, Орехов СН, Чакалева ИИ. *Биотехнология*. Катлинский АВ, ред. М.: «Академия»; 2014. [Sazykin YuYu, Orekhov SN, Chakaleva II. *Biotechnology*. Katlinsky AV, ed. Moscow: Academy; 2014 (In Russ.))
5. Коваленко ЕА, Шаров ДА, Лещенко АА, Лазыкин АГ, Мохов ДА, Багин СВ и др. Способ получения питательного субстрата для выращивания сибиреязвенного микроба. Патент Российской Федерации № 2748307; 2021. [Kovalenko EA, Sharov DA, Leshchenko AA, Lazykin AG, Mokhov DA, Bagin SV, et al. Method for producing nutrient substrate for growing anthrax microbe. Patent of the Russian Federation № 2748307; 2021 (In Russ.))

**Вклад авторов.** **Д.А. Шаров** – общее руководство исследованиями, окончательное редактирование текста рукописи; **А.А. Лещенко** – идея, концепция и дизайн исследования, теоретическое обоснование возможности создания технологии сухой среды для питательной производства сибиреязвенной вакцины; **Е.А. Коваленко** – экспериментальная работа по обоснованию условий хранения и определению срока годности сухой питательной среды, анализ и интерпретация результатов исследований, статистическая обработка результатов исследований; **Д.В. Боровской** – разработка дизайна исследования и окончательное утверждение версии рукописи для публика-

**Authors' contributions.** **D.A. Sharov**—general management of the study, final editing of the manuscript; **A.A. Leshchenko**—development of the study idea, concept and design, theoretical substantiation of the possibility of a technology for the preparation of dry nutrient media for the production of anthrax vaccines; **E.A. Kovalenko**—experimental justification of storage conditions and determination of the shelf life for the dry nutrient medium, and analysis, interpretation and statistical processing of the study results; **D.V. Borovskoy**—development of the study design and assistance in the final approval of the manuscript for publication; **V.V. Krupin**—participation in the development of the study design

<sup>12</sup> Нормативная документация Р N001273/01-161019 Вакцина сибиреязвенная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения.



ции; **В.В. Крупин** – участие в разработке дизайна исследования и обсуждении полученных результатов; **С.В. Багин** – экспериментальная работа по выбору технологического оборудования и режима обезвреживания питательной среды, анализ и интерпретация результатов исследований; **Д.А. Мохов** – экспериментальная работа по определению показателей качества сухой питательной среды для производства сибиреязвенной вакцины и участие в корректировке текста статьи; **А.Г. Лазыкин** – экспериментальная работа по обоснованию условий хранения и определению срока годности сухой питательной среды, анализ и интерпретация результатов, оформление рукописи; **И.В. Косенков** – анализ литературы и участие в корректировке текста рукописи; **А.Н. Мошков** – экспериментальная работа по определению показателей качества полуфабрикатов и готового препарата – вакцины сибиреязвенной живой.

**Благодарности.** Исследование проводилось без спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

and in the discussion of the obtained results; **S.V. Bagin**—experimental selection of the production equipment and dehydration mode for the nutrient medium, analysis and interpretation of the study results; **D.A. Mokhov**—experimental determination of the quality attributes of the dry nutrient medium for anthrax vaccine production, participation in the manuscript finalisation; **A.G. Lazykin**—experimental justification of storage conditions and determination of the shelf life for the dry nutrient medium, analysis and interpretation of the results, formatting of the manuscript; **I.V. Kosenkov**—literature review and participation in the manuscript finalisation; **A.N. Moshkov**—experimental determination of the quality attributes of intermediates and the finished live anthrax vaccine.

**Acknowledgements.** This study was carried out with no external funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## Об авторах / Authors

**Шаров Дмитрий Александрович**, канд. техн. наук.  
**Лещенко Андрей Анатольевич**, д-р техн. наук, проф.  
SPIN-код РИНЦ: 8372-6969  
[23527@mil.ru](mailto:23527@mil.ru)

**Коваленко Елена Александровна**, канд. биол. наук.

**Боровской Денис Витальевич**, канд. биол. наук.

**Крупин Владимир Викторович**, канд. мед. наук.

**Багин Сергей Валерьевич**, канд. техн. наук.

**Мохов Дмитрий Александрович**, канд. биол. наук.

**Лазыкин Алексей Геннадьевич**, канд. биол. наук.

SPIN-код РИНЦ: 7269-0027

**Косенков Иван Викторович.**

**Мошков Александр Николаевич.**

**Dmitry A. Sharov**, Cand. Sci. (Techn.).

**Andrey A. Leshchenko**, Dr. Sci. (Techn.), Professor. SPIN-code: 8372-6969  
[23527@mil.ru](mailto:23527@mil.ru)

**Elena A. Kovalenko**, Cand. Sci. (Biol.).

**Denis V. Borovskoy**, Cand. Sci. (Biol.).

**Vladimir V. Krupin**, Cand. Sci. (Med.).

**Sergey V. Bagin**, Cand. Sci. (Techn.).

**Dmitry A. Mokhov**, Cand. Sci. (Biol.).

**Aleksey G. Lazykin**, Cand. Sci. (Biol.). SPIN-code: 7269-0027

**Ivan V. Kosenkov.**

**Aleksandr N. Moshkov.**

*Поступила 27.10.2021*

*После доработки 18.05.2022*

*Принята к публикации 10.06.2022*

*Received 27 October 2021*

*Revised 18 May 2022*

*Accepted 10 June 2022*