

Ж.А. Коновалова, А.Г. Атлас, В.И. Дубровина

НЕКОТОРЫЕ ПУТИ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ И СПОСОБЫ ОЦЕНКИ ЕЕ ИММУНОГЕННОСТИ (ОБЗОР)

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока»
Роспотребнадзора (Иркутск)

В обзоре представлены современные данные о научно-исследовательских разработках в области живых чумных вакцин, которые касаются получения антибиотикоустойчивых субкультур вакцинных штаммов, конструирования вакцинных штаммов продуцентов со сниженной реактогенностью, создание таблетированной формы препарата. Изложен материал по методическим приемам совершенствования производства чумной вакцины, в частности стабилизации числа живых микробных клеток в прививочной дозе коммерческой вакцины путем снижения температурного режима культивирования с 27 °C до 21 °C, снижения концентрации микробных клеток (м.к.) в ампуле с $(5-10) \times 10^{10}$ до $(1-4) \times 10^{10}$ в 1 мл, сокращения этапа лиофилизации с 28 до 18 ч, снижения количества человеко-доз в ампуле с 100–125 до 20–50, а также ускорения процесса получения концентрата микробных клеток (культивирование в аппарате ферментере, тангенциальная микрофльтрация) и подбора комбинированных (мясная и соевая питательная основа) питательных сред и условий их приготовления (сокращение времени ферментативного гидролиза с 14 до 3 суток). Проанализированы тенденции совершенствования аппаратного звена технологического процесса, которые заключаются в использовании аппаратов-ферментеров вместо аппарата для культивирования микробов Шестеренко, одноразовых мешков Flexboy, позволяющих исключить применение стеклянных бутылей и операцию монтажа бутылей, а также применение роботизированных сублимационных установок для сушки жидкой формы вакцины сухой чумной, исключающих использование низкотемпературных холодильников. Для оценки качества конечного продукта производства живой чумной вакцины, наряду с регламентированным методом оценки иммуногенности (расчет эффективной иммунизирующей дозы) и количественного учета феномена переживания белых мышей, предлагается оценка цитоэнзимохимических и морфометрических показателей, изменения которых характеризуют иммунологическую активность и состояние мобилизационной и бактерицидной способности системы фагоцитирующих клеток организма.

Ключевые слова: возбудитель чумы, живая чумная вакцина, иммуногенность

SOME WAYS OF PRODUCTION PROCESS OF LIVE PLAGUE VACCINE AND TECHNIQUES OF EVALUATION THE IMMUNOGENICITY (REVIEW)

Zh.A. Konovalova, A.G. Atlas, V.I. Dubrovina

Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk

The modern findings of scientific research in a live plague vaccine range such as production antibiotic-resistant subcultures of the vaccine strains, design of the low-development of reaction producers vaccine strains, production of oral (tablet) preparation are represented in the review.

Some techniques of production improvement live plague vaccine are formulated: stabilization of a number alive microbial cells in a inoculation dose of a license vaccine by decreasing of cultivation temperature mode from 27 °C till 21 °C, concentration of microbial cells in ampoule from $(5-10) \times 10^{10}$ till $(1-4) \times 10^{10}$ per 1 ml, reduction freezing-drying step from 28 till 18 h, decreasing of amount dose in ampoule from 100–125 till 20–50 and furthermore acceleration of production process of microbial cells concentrate (fermentation in the bioreactor, tangential microfiltration) and formulation combined (meat-soya nutritious base) medium and conditions of their preparation (time reduction enzymatic hydrolysis from 14 till 3 days).

The tendenceis of refinement of a technological process of equipment link were researched, such as using bioreactors instead of apparatus for a cultivation microbes Shesterenko, disposable bags Flexboy, which are allowed to eliminate the application of glass bottles and operation of a bottle assembling, also using of robotizing sublimation installations for drying of a liquid form of live plague vaccine, which are allowed to exclude utilization of low-temperature refrigerators. Beside of regulating estimation method of immunogenicity (calculation of effective immunizing dose) and quantitative account of a phenomenon of survival white mice the cyto-enzymochemical and morphometric rates are suggested to estimate the quality of ultimate product live plague dry vaccine, changes of those are charactering immunologic activity and state of mobilizing and bactericidal abilities of a organism phagocyte system cells.

Key words: plague agent, live plague vaccine, immunogenicity

Одной из основных составляющих современной стратегии противодействия инфекционным болезням является производство профилактических препаратов. Применение вакцинации как средства специфической профилактики особо опасных инфекций в течение длительного времени свидетельствует о сохранении ее весомой роли в системе противоэпидемических мероприятий [16, 32].

Страны, разрабатывающие и производящие вакцины для специфической профилактики чумной инфекции, руководствуются международными требованиями ВОЗ, которые касаются прежде всего безопасности и специфической активности препаратов, соблюдения правил их качественного производства (GMP) и государственного контроля [17, 19].

Из множества предложенных для применения чумных аттенуированных вакцинных штаммов наибольшим преимуществом обладает штамм *Yersinia pestis* EV, полученный французскими учеными G. Girard и J. Robic в результате ежемесячных пересевов на питательном агаре при температуре 18–20 °C в течение 5 лет [35]. В 1936 г. вакцинный штамм EV был передан G. Girard из Пастеровского института в г. Антананариву (о. Мадагаскар) советским ученым. На территории Российской Федерации выпуск вакцины чумной живой (лиофилизированная живая культура вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ со стабилизатором) осуществляется сотрудниками научно-производственной лабораторией чумных вакцин ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Вакцина вызывает развитие специфического иммунитета длительно до одного года. Прививкам подлежат дети с 2-х лет и взрослые, проживающие на энзоотических территориях, а также лица, работающие с живыми культурами возбудителя чумы. За прошедшие десятилетия живой чумной вакциной были привиты миллионы людей без каких-либо серьезных осложнений [9, 22, 26, 30, 34].

Технология изготовления вакцины чумной живой – это единый сложный процесс (4 стадии и 83 операции), который предусматривает получение посевных культур *Y. pestis* EV I, II, III генерации, накопление биомассы, выращенной в аппарате для культивирования микробов Шестеренко или ферментере для приготовления вакцинной взвеси необходимой концентрации с последующим розливом, замораживанием, сублимационным высушиванием, герметизацией и упаковкой препарата [27, 28].

Применяемая в настоящее время в странах СНГ чумная живая вакцина стимулирует напряженный и эффективный поствакцинальный иммунитет, предохраняет от гибели после заражения атипичными вариантами возбудителя чумы за счет индукции иммунного ответа на целый ряд антигенов, расположенных на клеточной поверхности как типичных, так и измененных бактерий [5]. Однако следует признать, что живая чумная вакцина обладает высокой реактогенностью и способностью вызывать тяжелые местные и системные реакции у здоровых вакцинируемых, и даже генерализованный инфекционный процесс у лиц со сниженным иммунным статусом [15, 38].

Среди научно-исследовательских разработок в области живых чумных вакцин выделяют следующие направления:

- получение антибиотикоустойчивых субкультур вакцинных штаммов;
- конструирование вакцинных штаммов продуцентов со сниженной реактогенностью;
- создание оральной формы вакцины.

Получение антибиотикоустойчивых субкультур вакцинных штаммов, пригодных для одновременной специфической и экстренной профилактики при угрозе или возникновении эпидосложнений, связанных с чрезвычайными ситуациями техногенного или био-

террористического характера, является актуальным направлением вакцинопрофилактики. Проведены государственные испытания чумной живой полиантибиотикорезистентной вакцины (лиофилизат для приготовления раствора для инъекций), разработанной в НИИ МО РФ (Киров)), которая на фоне применения антибиотиков обладает специфической иммунологической эффективностью, безвредностью и низкой реактогенностью [20, 21].

Одной из важных задач современной системы противочумной защиты населения является снижение реактогенности живой чумной вакцины. Полученный С.А. Агеевым [3] штамм *Y. pestis* EVΔ ρ xM по своим культурально-морфологическим свойствам не отличается от исходного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, обладает меньшей остаточной вирулентностью для мышей по сравнению с родительским штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ. Мутантный штамм способен к более эффективному размножению в лимфоузлах по сравнению с родительским штаммом, но при этом вызывает менее выраженное воспаление. Считается, что более выраженная остаточная вирулентность вакцинного штамма обеспечивает формирование более эффективного противочумного иммунитета [22]. Между тем, иммунизация мутантным штаммом *Y. pestis* EVΔ ρ xM приводит к индукции более высокого специфического антительного ответа на иммунодоминантные антигены *Y. pestis* F1 и V по сравнению с исходным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ. Кроме того, штамм *Y. pestis* EVΔ ρ xM предохраняет белых мышей от подкожного заражения вирулентной культурой чумного микроба в 2,5 раза более успешно по сравнению с эталонным штаммом EV НИИЭГ и индуцирует у животных формирование более напряженного иммунитета. Продукция фактора некроза опухолей α (ФНО- α) макрофагами человека и мыши после стимуляции их липополисахаридом (ЛПС) из *Y. pestis* EVΔ ρ xM была значительно ниже по сравнению с продукцией ФНО- α , индуцированной ЛПС родительского штамма EV НИИЭГ. Снижение воспалительного ответа макрофагов на этапе внедрения инфекции позволяет бактериальным клеткам мутантного штамма EVΔ ρ xM успешнее преодолевать фагоцитарный барьер и диссеминировать в организме, что и приводит в конечном итоге к более высокому уровню протективного иммунитета [3].

Известно, что наиболее перспективными формами живых вакцин являются таблетированные препараты, состоящие из биологически активных субстанций (биокомпонента) и специального наполнителя, обеспечивающего придание таблетке необходимых физико-химических и вкусовых качеств. Это в полной мере относится и к таблетированной форме вакцины чумной живой, являющейся средством экспрессной профилактики чумной инфекции. Технологический процесс получения таблетированной чумной живой вакцины предусматривает выполнение ряда последовательных операций, направленных, в конечном итоге, на придание прессуемой смеси свойств, обеспечивающих получение готового препарата, соответствующего установленным нормативной документацией требованиям. При этом сама таблетка

должна полностью удовлетворять не только нормативам, которые установлены для нее госфармакопеей как к лекарственной форме, но и содержать требуемое количество полноценных живых микробов вакцинного штамма, обеспечивающих необходимую иммунизирующую дозу [18]. Технологическая схема производства таблетированной вакцины состоит из следующих основных стадий: приготовление концентрированной суспензии клеток вакцинного штамма, ее обезвоживание, приготовление таблеточной массы и таблетки. Показателями, определяющими качество вакцины, являются специфическая активность и механическая прочность таблетки. Учитывая тот факт, что местный иммунитет при энтеральном введении вакцин развивается быстрее, чем при других методах, то применение таблетированной формы вакцины может использоваться в случае необходимости быстрого достижения специфической устойчивости при опасности возможного заражения через рот.

Несмотря на то, что производство чумной вакцины в России осуществляется уже в течение семи десятилетий, до сих пор продолжаются научные исследования, направленные на совершенствование его технологии и методов контроля [11].

Тактика совершенствования чумной вакцины осуществляется в направлении дальнейшей стандартизации коммерческого препарата [7] посредством разработки и внедрения в производство дополнительных условий стабилизации числа живых микробных клеток в прививочной дозе коммерческой вакцины (сохранение всех свойств микробов в течение длительного времени) и включает следующие методические приемы:

- снижение температурного режима культивирования до 21 °С;
- снижение концентрации микробных клеток в ампуле до $(1-4) \times 10^{10}$ в 1 мл;
- ускорение этапа лиофилизации до 18 ч;
- снижение количества человеко-доз в ампуле до 20–50.

Режим культивирования вакцинного штамма при температуре (21 ± 1) °С, вместо регламентированных в производственном регламенте (ПР) на вакцину чумную (27 ± 1) °С способствует большей устойчивости к лиофилизации на одноименном этапе производства препарата вакцины и позволяет получить более высокий исходный показатель живых микробных клеток как в биомассе, так и в вакцине, полученной из нее [1]. Снижение температуры культивирования чумного микроба до 20–25 °С способствует улучшению качества вакцины за счет возрастания в биомассе процента живых клеток, так как здесь температурный фактор определяет соответствующий уровень физиологической и метаболической активности микробных клеток [4, 13]. Жизнеспособность препарата, выращенного при (21 ± 1) °С, практически во всех образцах превосходит в среднем в 1,5 раза таковую у вакцины, выращенной при (27 ± 1) °С не только после высушивания, но и при хранении в течение двух лет в условиях «холодовой цепи» при (4 ± 2) °С ($p < 0,05$).

Важным моментом биотехнологии производства чумной вакцины является оптимизация процентного

содержания компонентов на единицу взвешенных в среде микробных клеток и отработка режимов лиофилизации, которые позволили бы достигать низкой потери массы при высушивании. В настоящее время разработаны условия стабилизации вакцины с густотой микробной суспензии $(1-4) \times 10^{10}$ вместо регламентированных $(5-10) \times 10^{10}$ м.к. в объеме 1 мл в ампуле [20, 21]. Регламентирован режим лиофилизации, предполагающий возможность сокращения общего времени отторжения влаги в среднем на 10 часов (с 28 до 18 часов), что позволяет увеличить число живых микробных клеток в готовом препарате на 12–20 % и стабилизировать его в процессе хранения (показатель потери в массе при высушивании не превышает 1,5 %) [12].

Разработка биотехнологии изготовления чумной вакцины со сниженным числом человеко-доз в ампуле является удобной для проведения иммунизации сравнительно небольших по численности коллективов, когда ресуспендированный препарат не может длительно храниться и должен быть сразу же использован. В настоящее время разработана производственная биотехнология вакцины чумной живой с содержанием от 20 до 50 доз в ампуле (вместо регламентированных 100–125), обладающая преимуществом в области практического применения, которая заключается в удобстве при иммунизации небольших коллективов (от 20 до 50 человек). Препарат наиболее эффективен при использовании в регионах с жарким климатом и специфическими условиями вакцинации, например, в немногочисленных, расположенных на значительном расстоянии друг от друга точках: стойбищах скотоводов, охотников и т. д., а также в относительно ограниченных коллективах: лабораториях, работающих с возбудителем чумы, командах судов, осуществляющих заграничное плавание и др. [12].

Одним из способов оптимизации технологического процесса производства является ускорение процесса получения концентрата микробных клеток с одновременным увеличением его выхода с единицы объема среды, что может быть реализовано при выращивании нативной культуры *Y. pestis* EV методом глубинного культивирования в аппарате-ферментере. Процесс концентрирования микробной массы осуществляется путем микрофильтрации культуры чумного микроба на ультра-микрофильтрационной установке «Сартокон-мини» через мембраны с размером пор 0,2 мкм в режиме тангенциального потока жидкости [24]. Использование этого способа в производственном процессе крайне необходимо в случае концентрирования плохо осаждаемых (седиментационно-устойчивых) культур и выбракованного полуфабриката чумной вакцины (по концентрации микробных клеток), когда вследствие ряда причин не удастся вырастить нативную культуру с требуемой по регламенту концентрацией микробных клеток (по ОСО мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича). Кроме того, глубинное аппаратное выращивание в ферментерах с жидкими питательными средами на основе гидролизатов казеина считают наиболее продуктивным и технологичным методом культивирования бактерий [31].

Следует отметить, что при производстве препарата вакцины чумной живой требуются качественные чувствительные питательные среды, обеспечивающие потребности роста чумного микроба. Разработка белковых гидролизатов, как основы для производства питательных сред, до настоящего времени привлекает внимание исследователей. При конструировании питательных сред важным начальным этапом является выбор оптимальных белковых питательных основ, которые во многом определяют качество конечного продукта. Условия гидролиза мясного сырья для приготовления питательных сред оказывают влияние на степень расщепления азотистых веществ. В связи с тем, что согласно существующим методикам [29] гидролиз целесообразно проводить в течение 8–14 суток, то весьма актуальным является конструирование питательных сред на основе гидролизатов мяса, полученных ускоренным способом (3 суток). Такие питательные среды по биологическим показателям равноценны средам из мясных основ, подвергшихся ферментативному гидролизу традиционным способом, а также коммерческим аналогам [23].

Одним из возможных вариантов оптимизации производства препарата вакцины чумной живой является необходимость поиска более дешевых источников белкового сырья, поскольку использование мяса в традиционных технологиях приготовления питательных сред увеличивает себестоимость последних. На основе сравнительного изучения культуральных, физико-химических свойств и аминокислотного состава питательных основ предложена технология приготовления питательных сред для культивирования чумного микроба из гидролизатов сои (бобов) и продуктов ее переработки, показано преимущество использования комбинированных мясных и соевых питательных основ для приготовления питательных сред, предназначенных для получения жизнеспособной биомассы чумного микроба [31].

Для оптимизации технологического процесса выпуска живой чумной вакцины, учитывая современные технологии, в качестве альтернативы стеклянным бутылкам предлагается использовать мешки Flexboy для подготовки, хранения и транспортировки промежуточных и конечных продуктов вакцинного производства. Для максимальной гибкости процесса мешки снабжены термопластичными шлангами из термоэластопласта, что обеспечивает их гибкое встраивание в технологический процесс [36].

Иммуногенность является одним из основных критериев качества конечного продукта в вакцинном производстве. Наряду с регламентированным определением иммуногенности посредством двукратного инфицирования животных и расчетом эффективной иммунизирующей дозы [27, 28], предлагается способ, основанный на количественном учете феномена переживания белых мышей. Этот метод позволяет исключить двухэтапное инфицирование экспериментальных животных и сократить сроки получения результатов исследования до 14–18 суток. Показатели иммуногенности, полученные при использовании предлагаемого метода, строго коррелируют с показателями ЕД₅₀ изучаемых культур [6].

Использование системно-функционального подхода в оценке иммунного ответа позволит определить способность каждого звена иммунной системы организма (фагоцитоза, клеточного и гуморального иммунитета) выполнять свои биологические функции, для оценки которых Р.М. Хаитовым с соавт. [33] разработана специальная технология определения поглощения, киллинга, переваривания микробов, а также метод идентификации антигенспецифических CD3+CD8+ Т-киллеров с помощью проточной цитометрии.

В качестве косвенных показателей иммунологической перестройки при вакцинальном процессе рядом исследователей предлагается использовать оценку цитоэнзимохимических показателей полиморфноядерных лейкоцитов в различных типах инфекционно-вакцинального процесса по активности миелопероксидазы (МПО) и содержанию неферментных катионных белков (НКБ). Установлено, что после заражения иммунных к чуме белых мышей защитная функция бактерицидных факторов ПЯЛ периферической крови обеспечивается обеими системами: МПО и НКБ. Изменение этих показателей может служить основанием для характеристики иммунной активности организма в течение инфекционного процесса, а также позволяет оценить степень реакции на введение вакцинного штамма, которая говорит о формировании иммунитета [1, 8, 25].

Установлено, что ключевая роль в создании противочумного иммунитета принадлежит клеточным факторам иммунитета. Поэтому для оценки иммуногенности живой чумной вакцины возможно использовать иммунологические показатели, в частности определение фагоцитарной активности в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест). Результаты этого исследования отражают активность НАДФ-Н-оксидазы лейкоцитов, ответственной за восстановление НСТ в нерастворимый диформазан и характеризуют состояние мобилизационной способности и микробицидной активности [33, 37].

Для оценки ответной реакции макроорганизма на введение живой чумной вакцины рядом исследователей предлагается характеристика изменений показателей клеточного состава иммунокомпетентных органов. Так, использование морфометрического метода для оценки морфофункционального состояния систем организма позволяет количественно характеризовать изменения клеточных популяций и взаимоотношения отдельных органных структур [2, 29]. По данным С.А. Витязевой с соавт. [10], изменения клеточного состава (увеличение бластоцитарной и плазмоцитарной активности, гиперплазия ретикулярной ткани, лимфоидная гиперплазия) лимфоидных фолликулов селезенки и лимфоузлов свидетельствуют об усилении иммуноцитопозитических функций органов иммунной системы, что является важным показателем перестройки организма при иммунизации живой чумной вакцины [10].

Установлено, что вакцинация людей против чумы вызывает одноклеточные митоген- и антиген-индуцированную продукцию интерферона гамма (IFN- γ)

как в смешанной популяции лимфоцитов, так и в культуре клеток крови. В связи с этим, предложено использование параметров индуцированной продукции цитокина IFN- γ в качестве критерия оценки противочумного иммунитета у людей [14].

Таким образом, резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод, что разрабатываемые и внедренные в настоящее время способы оптимизации технологического процесса производства препарата живой чумной сухой вакцины позволят улучшить качество готового препарата. Предлагаемые иммунологические тесты для оценки иммуногенности конечного продукта живой чумной вакцины могут лечь в основу составления надежного алгоритма оценки степени реакции организма на введение вакцинного штамма, которая свидетельствует о формировании иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абзаева Н.В. Повышение жизнеспособности *Yersinia pestis* EV в биомассе вакцины: дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2010. – 122 с.
2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
3. Агеев С.А. Конструирование аттенуированных штаммов *Yersinia pestis* с пониженной реактогенностью: дис. ... канд. биол. наук. – Оболensk, 2010. – 122 с.
4. Алутин И.М. Влияние температуры окружающей среды на биологическую активность возбудителя чумы: автореф. ... канд. мед. наук. – Саратов, 1974. – 19 с.
5. Анисимов А.П. Факторы, обеспечивающие блокообразующую активность *Yersinia pestis* // Молекул. генетика. – 1999. – № 4. – С. 11–15.
6. Апарин Г.П., Вершинина Т.И. Методические рекомендации по определению степени иммуногенности авирулентных штаммов чумного микроба для белых мышей. – Иркутск, 1984. – 8 с.
7. Будыка Д.А. Научно-методические основы совершенствования живой чумной вакцины: дис. ... докт. мед. наук. – Ставрополь, 2002. – 279 с.
8. Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Руднев С.М. Бактерицидная активность полиморфноядерных лейкоцитов крови белых мышей привитых против чумы и в различных схемах инфицирования чумной инфекцией // Проблемы особо опасных инфекций. – Саратов, 2009. – № 2 (100). – С. 56–60.
9. Вакцины и вакцинация: национальное руководство / под. В.В. Зверева, Б.Ф. Семенова, Р.М. Хаитова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 880 с.
10. Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И., Голубинский Е.П. Методические рекомендации по использованию показателей клеточного состава иммунокомпетентных органов экспериментальных животных для оценки иммунной перестройки организма в процессе формирования иммунитета к чуме. – Иркутск, 2007. – 7 с.
11. Выбор тест-культуры для оценки качества питательных основ и сред, используемых в производстве вакцины чумной живой сухой / Е.В. Желудкова [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2007. – № 2 (94). – С. 72–74.
12. Ефременко А.А. Разработка биотехнологии вакцины чумной живой сухой со сниженным количеством человека-доз в производственной упаковке (ампуле): дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2005. – 117 с.
13. Иванова Г.Ф., Будыка Д.А., Абзаева Н.В. Сравнительное изучение эффективности противочумных вакцин, полученных из биомасс, выращенных при $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ // Фундаментальные исследования в биологии и медицине: сборник науч. трудов. – Ставрополь, 2007. – Вып. 2. – С. 186–188.
14. Индуцированная продукция IFN- γ и IL-4 как показатель функциональной активности TH1- и TH2-клеток у вакцинированных против чумы людей / Т.Н. Шуковская [и др.] // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 6. – С. 78–83.
15. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 4. Опыт ревакцинации волонтеров «химической» и живой чумной вакцинами / С.М. Дальвадянц [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2006. – № 1 (91). – С. 57–61.
16. Исупов И.В., Бугоркова С.А., Кутырев В.В. Патоморфологические аспекты доклинических испытаний различных вакцин против чумы, сибирской язвы и холеры. – Саратов, 2004. – 180 с.
17. Кутырев В.В., Девдариани З.Л., Саяпина Л.В. Современное состояние научных исследований в области вакцинопрофилактики особо опасных бактериальных инфекций // Проблемы особо опасных инфекций. – 2006. – № 2 (92). – С. 18–24.
18. Математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины / С.А. Швецов [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 1. – С. 64–71.
19. Медуницын Н.В. Вакцинология. – М.: «Триада-Х», 2010. – 512 с.
20. Медуницын Н.В., Покровский В.И. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 528 с.
21. Молдаван И.А. Экспериментальное обоснование преимуществ сочетанной специфической и экстренной профилактики чумы: дис. ... канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 2005. – 172 с.
22. Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба: метод. указания. – М.: Федеральный центр госанэпиднадзора Минздрава России, 2002. – 63 с.
23. Пат. 2260620 Российская Федерация, МПК7 C12N1/20, C12Q1/04. Питательная среда (жидкая) для культивирования чумного микроба вакцинного штамма EV / Катунина Л.С., Старцева О.Л., Малецкая О.В., Головнева С.И., Смирнова Е.Б., Курилова А.А.; заявитель и патентообладатель Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. – № 2004104518/13; заявл. 16.02.2004. опубл. [20.09.2005]: URL: http://www1.fips.servl/fips_servlet?lockId (дата обращения: 22.02.2013).
24. Пат. 2260620 Российская Федерация, МПК7 C12N7/02, C12N7/00, A61K39/12, A61K39/175, A61K39/187. Способ получения концентрата микробных клеток в производстве чумных вакцин / Коваленко В.Н., Асеев А.А., Черкасов Н.А., Ежов А.В.,

Багин С.В., Хонин А.З., Мохов Д.А.; заявитель и патентообладатель Научно-исследовательский институт микробиологии МО РФ. – № 2001117972/13; заявл. 27.06.2001. опубл. [20.07.2003]: URL: http://www1.fips_servl/fips_servlet?lockId (дата обращения: 22.02.2013).

25. Пигаревский Е.В. Лизосомально-катионный тест // Методические рекомендации. – М., 1979. – 29 с.

26. Получение биомассы бацилл методом глубокого периодического культивирования / А.А. Степин [и др.] // Биотехнология. – 1994. – № 3. – С. 31–33.

27. Регламент производства № 1542-04 Вакцина чумная живая сухая. – Ставрополь, 2004. – 256 с.

28. Регламент производства № 37-86 Вакцина чумная живая сухая. – Министерство здравоохранения СССР. – 303 с.

29. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Иммунная система, стресс и иммунодефицит. – М.: АПП «Джангар», 2000. – 184 с.

30. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / под ред. М.О. Биргера. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.

31. Старцева О.Л. Совершенствование биотехнологии производства питательных сред для культиви-

рования чумного микроба на основе сырья животного и растительного происхождения: дис. ... канд. биол. наук. – Ставрополь, 2005. – 158 с.

32. Стратегия борьбы с инфекционными болезнями и санитарная охрана территорий в современных условиях / Г.Г. Онищенко [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2006. – № 2 (92). – С. 5–9.

33. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 352 с.

34. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis* // Clinical Microbiology Reviews. – 2004. – Vol. 17, N 2. – P. 434–464.

35. Girard G. Immunity in plague. Acquisitions supplied by 30 years of work on the «pasteurella pestis ev» (girard and robic) strain // Biol. Med. (Paris). – 1963. – Vol. 52. – P. 631–731.

36. <http://www.sartorius> (дата обращения: 19.03.2013).

37. John M. The NBT test – a review // Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol. Blutforsch. – 1980. – Vol. 107, N 3. – P. 358–371.

38. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague // Clin. Microbiol. Rev. – 1997. – Vol. 10, N 1. – P. 35–66.

Сведения об авторах

Коновалова Жанна Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-производственного отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, раб. тел.: 8 (3952) 220135, shanna75@mail.ru)

Атлас Александр Гилельевич – заведующий научно-производственным отделом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, раб. тел.: 8 (3952) 220134)

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующий лабораторией патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, раб. тел.: 8 (3952) 220135)