



В ПОМОЩЬ ВИРУСОЛОГУ



ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-333>

© МУХАЧЕВА А.В., БАРАНОВА Е.В., БОГРЯНЦЕВА М.П., НЕЧАЕВА Е.А., СМОЛИНА М.П., САРКИСЯН К.А., ЯНДИМИРОВА С.С., ШУБИНА Е.А., 2025

Результаты аттестации фармакопейного стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины

Мухачева А.В.^{1✉}, Баранова Е.В.¹, Богрянцева М.П.², Нечаева Е.А.², Смолина М.П.², Саркисян К.А.¹, Яндимирова С.С.¹, Шубина Е.А.¹

¹ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, 127051, г. Москва, Россия;

²ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово, Россия

Резюме

Введение. Фармакопейный стандартный образец активности, специфичности и некротической активности используется при испытаниях вакцин для профилактики оспы. В рамках аттестации фармакопейного стандартного образца была запланирована оценка возможности применения новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) культуральным методом (*in vitro*) с целью испытаний вакцин для профилактики оспы, произведенных с использованием культуры клеток.

Цель работы – проведение аттестации фармакопейного стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины по основным аттестуемым характеристикам, а также оценка возможности использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода.

Материалы и методы. Для исследования использовали фармакопейный стандартный образец Государственной фармакопеи Российской Федерации (далее – ГФ РФ) Стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины ФСО 3.2.00113, серия 130406 (далее – ФСО ГФ РФ 3.2.00113). С целью оценки аттестуемых характеристик применяли фармакопейные биологические методы, описанные в ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая. Для определения специфической активности, специфичности (подлинности) культуральным методом применяли методику, предоставленную ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Новосибирск). Оценка статистических данных проводили в программе Microsoft Excel.

Результаты. Проведена аттестация ФСО ГФ РФ 3.2.00113. Положительным образом была оценена возможность использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода.

Заключение. Наряду с подтверждением аттестованных характеристик была подтверждена возможность использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода, определены основные критерии приемлемости.

Ключевые слова: специфическая активность оспенных вакцин; некротическая активность оспенных вакцин; специфичность (подлинность); культуральный метод оценки специфической активности

Для цитирования: Мухачева А.В., Баранова Е.В., Богрянцева М.П., Нечаева Е.А., Смолина М.П., Саркисян К.А., Яндимирова С.С., Шубина Е.А. Результаты аттестации фармакопейного стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины. *Вопросы вирусологии*. 2025; 70(4): 374–387. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-333> EDN: <https://elibrary.ru/ellalg>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР124022200103-5).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ORIGINAL STUDY ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-333>

The results of certification of Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine

Anastasia V. Muhacheva^{1✉}, Ekaterina V. Baranova¹, Marina P. Bogyantseva²,
Elena A. Nechaeva², Margarita P. Smolina², Karine A. Sarkisyan¹,
Snezhana S. Jandimirova¹, Elena A. Shubina¹,

¹Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 127051, Moscow, Russia;

²State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, 630559, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

Abstract

Introduction. Pharmacopoeial standard of activity, specificity and necrotic activity is used in testing of for smallpox vaccines. As a part of standard certification, an opportunity of using Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine on new cell culture method (*in vitro*) for testing a new generation of smallpox vaccines was also defined.

The aim – certification of the Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine to the main certified characteristics and defining an opportunity for using Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine on new cell culture method (*in vitro*).

Materials and methods. Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine (FSO 3.2.00113, series 130406) and pharmacopoeial biological methods described in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation (S.Ph), the monograph 3.3.1.0033.15 Smallpox vaccine live were used in the study. For cell culture method, the technique from State Research Centre of Virology and Biotechnology «Vector» of the Federal Service for Surveillance in Consumer Rights Protection and Human Well-being, Novosibirsk Region, Koltsovo, Russian Federation was used. Statistical data were evaluated using Microsoft Excel software.

Results. The Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine (FSO 3.2.00113) was certified. The possibility of using a new method of determining specific activity, specificity (identification) using the culture method was confirmed.

Conclusion. Along with the confirmation of certified characteristics, the possibility of using a new methodology for determining specific activity, specificity (identification) using the culture method was confirmed, and the main acceptance criteria were determined.

Keywords: *specific activity of smallpox vaccines; necrotic activity of smallpox vaccines; specificity (identification); cell culture method for specific activity*

For citation: Muhacheva A.V., Baranova E.V., Bogyantseva M.P., Nechaeva E.A., Smolina M.P., Sarkisyan K.A., Jandimirova S.S., Shubina E.A. The results of certification of Pharmacopoeial standard for smallpox vaccine. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2025; 70(4): 374–387. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-333>
EDN: <https://elibrary.ru/ellalg>

Funding. This work was conducted within the framework of the State assignment of Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products No № 056-00001-25-00 for conducting applied research (Agreement No 124022200103-5).

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

Введение

Фармакопейный стандартный образец активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины, серия 130406 (далее – ФСО ГФ РФ 3.2.00113) применяется для контроля специфической активности, специфичности (подлинности), некротической активности и термостабильности живых оспенных вакцин биологическими методами, а также для подтверждения подлинности, антигенной активности и специфической безопасности инактивированной оспенной вакцины биологическими методами. Материал стандартного образца представляет собой производственную серию лекарственного препарата «Вакцина оспенная живая, лиофилизат для приготовления раствора для

внутрикожного введения и накожного скарификационного нанесения», серия 130406, производство акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» (АО «НПО «Микроген»). Серия препарата была произведена в 2006 г., впервые аттестована в 2007 г., успешно проходила аттестацию с целью продления срока годности в 2012, 2015, 2018 и 2021 гг. (дата продления срока годности – 31.12.2021, годен до 31.12.2024). Аттестация ФСО ГФ РФ 3.2.00113 биологическими методами была подробно описана нами ранее в научных публикациях [1]. Методики аттестации являются фармакопейными и указаны в требованиях ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая и ГФ РФ, ФС.3.3.1.0034.15 Вакцина оспенная инак-

тивированная^{1,2}. По итогам аттестации в 2021 г. серия 130406 приобрела статус фармакопейного стандартного образца, которому был присвоен номер ФСО ГФ РФ 3.2.00113 (ОСО 42-28-113). Необходимо отметить, что при аттестации по показателю «Специфическая активность» ФСО ГФ РФ 3.2.00113 используется 1 Международный стандартный образец оспенной вакцины, впервые аттестованный в 1962 г. (далее – МСО)³.

На сегодняшний день в РФ зарегистрирована культуральная вакцина нового поколения «ОртопоксВак Вакцина для профилактики натуральной оспы и других ортопоксвирусных инфекций на основе вируса осповакцины живая культуральная» (далее – «ОртопоксВак») [2]. Современные требования к качеству таких вакцин, которые отражены в п. 4.6. главы 30 Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии № 89⁵ и тенденции к переходу с методов контроля на животных (*in vivo*) на методы *in vitro*, в соответствии с п. 2.3.1.8 Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии № 100 (в ред. от 25.06.2024 № 75)⁶, диктуют необходимость применения культурального метода для оценки «Специфичности (подлинности)» и «Специфической активности» оспенных вакцин нового поколения.

Цель работы – проведение аттестации ФСО ГФ РФ 3.2.00113 по основным аттестуемым характеристикам, а также оценка возможности использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода.

¹Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. ФС.3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/3/3-3-3-1/vaktsina-ospennaya-zhivaya/>

²Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. ФС.3.3.1.0034.15 Вакцина оспенная инактивированная. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/3/3-3-3-1/vaktsina-ospennaya-inaktivirovannaya/>

³Всемирная организация здравоохранения. Международный стандартный образец оспенной вакцины. Код по каталогу NIBSC: SMV. Инструкция по применению (Версия 4.0, от 18/03/2008). Доступно по: https://nibsc.org/products/brm_product_catalogue/detail_page.aspx?catid=SMV

⁴Государственный реестр лекарственных средств. Доступно по: https://grls.minzdrav.gov.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=da624460-36a0-47be-bf46-850be407fc42

⁵Коллегия Евразийской экономической комиссии. Решение от 3 ноября 2016 года № 89. «Об утверждении правил исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» (с изменениями на 22 января 2025 года). Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/456026116>

⁶Коллегия Евразийской экономической комиссии. Решение от 11 августа 2020 г. № 100 «О Фармакопее Евразийского экономического союза». (в редакции Решений Коллегии Евразийской экономической комиссии от 25.10.2022 № 10, от 25.06.2024 № 75). Доступно по: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_359911/

Материалы и методы

Объектом исследования являлся ФСО ГФ РФ 3.2.00113. В качестве стандартного образца использовали МСО (NIBSC, каталожный номер SMV).

Оценку показателей «Специфическая активность», «Специфичность (подлинность)», «Некротическая активность» проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ, ФС. 3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая, раздел «Специфическая активность»².

При оценке возможности аттестации ФСО ГФ РФ 3.2.00113 культуральным методом по показателям «Специфическая активность» и «Специфичность (подлинность)» применяли методику, предоставленную ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Новосибирск). При испытаниях использовали 2 паспортизированные культуры клеток:

- культуру клеток 4647 – коллекционный шифр 184. Линия клеток получена в 1974 г. Л.Л. Мироновой в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАН из почки африканской зеленой марьши. Приобретена из коллекции культур ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора;
- культуру клеток Vero. Номер в коллекции ATCC – CCL 81. Номер лота: 58954145.

Выбор культур клеток был обусловлен тем, что культуральная вакцина «ОртопоксВак» производится с использованием в качестве субстрата культуры клеток 4647. Применение второй культуры клеток Vero обусловлено необходимостью проверки устойчивости методики.

При исследовании использовали паспортизированные питательные среды, сыворотки крови плодов коровы, растворы для работы с культурами клеток коммерческого производства. Работу с культурами клеток проводили в асептических условиях в соответствии с общепринятыми правилами, а также с соблюдением требований Санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Составы сред и растворов (приготовление проводили непосредственно перед использованием в асептических условиях)

Среда для получения суспензии клеток (среда для снятия клеточного монослоя):

- 0,25% раствор трипсина – 1 часть (1/3);
- 0,02% раствор версена – 2 части (2/3).

Или применяли готовый раствор трипсина-версена стерильный, коммерческого производства.

В качестве питательной среды для культивирования клеток (ростовая питательная среда) в разных циклах испытаний последовательно применяли 3 различных наименования питательных сред, а именно: питательную среду ДМЕМ, или питательную среду Игла MEM с L-глутамином, или питательную среду RPMI-1640 с L-глутамином. К каждой питательной среде добавляли 5–10% сыворотки крови плодов коровы и растворы антибиотиков (гентамицин или пенициллин-стрептомицин) в рабочих концентрациях. В качестве поддер-

живающей питательной среды применяли аналогичные наименования питательных сред со сниженным содержанием сыворотки крови плодов коровы (2–5%).

Определение показателей «Специфическая активность» и «Специфичность (подлинность)» (проводилось 3 исполнителями и состояло из нескольких этапов)

1. Подготовка планшетов с культурой клеток

Культуру клеток Vero и 4647 выращивали в культуральных флаконах в CO_2 -инкубаторе с 5% содержанием углекислого газа при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24–48 ч до образования клеточного монослоя. Для культивирования применяли ростовые питательные среды, описанные выше.

Для снятия клеток с поверхности культуральных флаконов использовали подогретую до $37 \pm 1^\circ\text{C}$ смесь 0,25% раствора трипсина и 0,02% раствора версена, выдерживали клетки при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ до состояния набухания, удаляли смесь диспергирующего раствора трипсина-версена и добавляли в культуральный флакон около 50 мл ростовой питательной среды. Получали клеточную суспензию в растворе ростовой питательной среды и затем проводили подсчет клеток в автоматическом счетчике клеток производства фирмы Biorad.

Посевная концентрация клеточной суспензии в опытах составляла 250–500 тыс. клеток в 1 мл. Суспензию клеток разливали в 6-луночные планшеты, после чего проводили инкубацию в CO_2 -инкубаторе с 5% содержанием углекислого газа при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24–48 ч до образования клеточного монослоя.

2. Приготовление разведений образцов ФСО ГФ РФ 3.2.00113

С целью отработки методики и сравнения полученных результатов применяли 2 способа восстановления образцов:

- 1-й способ – 1 ампулу образца восстанавливали в 2,0 мл поддерживающей питательной среды, получая разведение 10^{-1} , после чего проводили последовательное приготовление 10-кратных разведений от 10^{-2} до 10^{-8} (восстановление и приготовление разведений в соответствии с требованиями раздела «Специфическая активность» ГФ РФ, ФС. 3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая);
- 2-й способ – 1 ампулу образца восстанавливали в 1,0 мл поддерживающей питательной среды, получая предварительное разведение 10^{-0} , после чего проводили последовательное приготовление 10-кратных разведений от 10^{-1} до 10^{-8} .

Количество 10-кратных разведений варьировалось в зависимости от результатов, получаемых при исследованиях.

3. Инфицирование культур клеток Vero и 4647 разведениями ФСО ГФ РФ 3.2.00113

Из 6-луночных планшетов со сформированным клеточным монослоем аккуратно удаляли ростовую питательную среду и в каждые 3 лунки (ряд)

вносили не менее 2–3 10-кратных разведений ФСО (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} или 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) в объеме 0,1 мл или 0,3 мл. Количество и разведения для инфицирования культур клеток зависели от целей того или иного этапа испытаний. В качестве отрицательного контрольного образца в каждом опыте использовали 3 лунки с незараженным монослоем культуры клеток, в которые вносили 0,1 или 0,3 мл поддерживающей питательной среды.

Планшеты с инфицированными культурами клеток выдерживали в CO_2 -инкубаторе при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 60 мин для адсорбции вируса.

Затем добавляли по 2,0 мл в каждую лунку 6-луночных планшетов поддерживающей питательной среды и продолжали инкубацию в CO_2 -инкубаторе при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 48–72 ч.

4. Учет результатов

Учет результатов проводили через 48–72 ч визуальным способом после окрашивания инфицированного клеточного монослоя, для этого аккуратно удаляли содержимое лунок в контейнер с дезинфицирующим раствором, инфицированный клеточный монослой фиксировали и окрашивали 0,2% спиртовым раствором кристаллического фиолетового с формальдегидом. Через 10–15 мин краситель удаляли, а культуральный планшет с окрашенным монослоем подсушивали. Подсчитывали количество специфических образований – бляшек (очагов разрушенного монослоя клеток округлой формы в виде белых пятен на синем фоне) в монослое культуры клеток. Затем вычисляли среднее арифметическое количество (В) бляшек в лунках, инфицированных разведением, вызвавшим образование не менее 5–10 бляшек. Вычисляли количество БОЕ/мл по формуле:

$$A = \frac{B}{C \times d}, \quad [1]$$

где: А – специфическая активность, БОЕ/мл; В – среднее арифметическое количество бляшек в монослое культуры клеток; С – разведение вируса; d – объем инокулята (мл).

При расчетах учитывали разведения препарата, в котором происходило образование не менее 5–10 бляшек на монослое клеток.

В случае внесения в лунку 0,3 мл разведения среднего результата, полученный в 3 лунках, делили на 3 или учитывали в формуле расчета.

Пример расчета:

$$A = \frac{11}{10^{-6} \times 0,1} = 1,0 \times 10^8 \text{ БОЕ/мл}$$

Специфическая активность составляет $1,0 \times 10^8$ БОЕ/мл.

Основные критерии приемлемости:

- 1) в отрицательном контроле не должно происходить образование специфических образований – бляшек;
- 2) в учитываемом для расчета разведении должно наблюдаться образование не менее 5–10 специфических образований – бляшек.

Исследование по оценке возможности проведения испытаний ФСО ГФ РФ 3.2.00113 культуральным методом (включало в себя несколько этапов)

1. *Проведение предварительного исследования.* При предварительном исследовании оценивали возможность формирования специфических образований – бляшек, подбирали способ восстановления ФСО ГФ РФ 3.2.00113 и определяли 10-кратные разведения с целью оценки показателя «Специфическая активность» и «Специфичность (подлинность)».

2. *Проведение исследования ФСО ГФ РФ 3.2.00113 с одновременным применением МСО.* Приготовление разведений в этом исследовании осуществлял 1 исполнитель в соответствии с требованиями инструкции по применению³.

3. *Оценка возможности проведения аттестации ФСО ГФ РФ 3.2.00113 культуральным методом.* На данном этапе исследование было разделено на 3 основных этапа (аналитических цикла), выполнение каждого этапа проводилось каждым из 3 исполнителей. При испытаниях использовали различные способы восстановления образцов, разные составы ростовых и поддерживающих питательных сред, применение разных объемов разведений ФСО для инфицирования клеточного монослоя.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере в Windows 7 с использованием редактора Microsoft Office Excel (Microsoft, США).

Результаты

При аттестации ФСО ГФ РФ 3.2.00113 с применением фармакопейных методик были получены следующие результаты:

а) специфическая активность – на хорионаллантоисной оболочке (ХАО) куриных эмбрионов: $3,8 \pm 2,5 \times 10^8$ оспообразующих единиц на 1 мл (ООЕ/мл);

б) специфичность (подлинность):

– при нанесении на скарифицированную кожу кроликов дозы 10^4 ООЕ/0,1 мл образуются типичные оспины;

– на ХАО 12-дневных куриных эмбрионов образуются белые плотные поражения диаметром от 0,5 до 3 мм;

в) некротическая активность – при внутрикожном введении кроликам дозы, равной 10^4 ООЕ/0,1 мл, некрозы отсутствуют.

Потеря в массе при высушивании составила 1,24%, рН – 6,99; средняя масса – $0,0106 \pm 0,0004$ г, коэффициент вариации массы – 3,80%; термостабильность – не менее 1×10^8 ООЕ/мл.

На основании полученных результатов аттестованных характеристик и дополнительных сведений для ФСО 3.2.00113 был установлен срок годности 1 год – до 31.12.2025.

Результаты оценки возможности испытания ФСО ГФ РФ 3.2.00113 по показателям «Специфичность (подлинность)» и «Специфическая активность» культуральным методом

Предварительное исследование проводилось каждым из 3 исполнителей. В качестве ростовой и под-

держивающей питательных сред была использована среда Игла МЕМ с двойным набором аминокислот и стабильным L-глутамином с добавлением сыворотки крови плодов коровы и антибиотиков в рабочих концентрациях на двух культурах клеток Vero и 4647. Испытанию подвергались образцы ФСО ГФ РФ 3.2.00113. Каждую из ампул исследуемых образцов исполнитель растворял в 2,0 мл поддерживающей питательной среды для получения разведения 10^{-1} , после чего проводил приготовление последовательных 10-кратных разведений в соответствии с требованиями ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 Вакцина оспенная живая, раздел «специфическая активность».

После удаления из 6-луночных планшетов с культурами клеток Vero и 4647 ростовой питательной среды, каждый исполнитель инфицировал по 1 ряду (3 лунки) разведениями 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} в объеме 100 мкл на 1 лунку. В пустые лунки, в которые не вносили разведения ФСО, добавляли 100 мкл поддерживающей питательной среды – отрицательный контроль. Пример учета результатов бляшкообразования представлен на **рис. 1**.

При предварительном исследовании были получены следующие результаты:

1. При инфицировании культур клеток Vero и 4647 ФСО ГФ РФ 3.2.00113 разведениями 10^{-6} и 10^{-7} наблюдалось образование специфических образований – бляшек, что предполагает возможность использования данной методики при подтверждении показателя «Специфичность (подлинность)» (**рис. 2, 3**). При инфицировании двух культур разведением 10^{-8} наблюдались единичные бляшки, в некоторых лунках они отсутствовали. Таким образом, при подтверждении показателя «Специфичность (подлинность)» целесообразным является использование разведений 10^{-6} и 10^{-7} .

2. В опыте было определено, что при приготовлении разведений ФСО ГФ РФ 3.2.00113 аналогично требованиям ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 на Вакцину оспенную живую расчет специфических поражений – бляшек целесообразно проводить в разведении 10^{-6} , где количество бляшек составило более 10 штук (у 3 исполнителей), что позволило получить более корректный результат. Расчет по разведению 10^{-7} приводит к завышению значений показателя «Специфическая активность». Полученные результаты показаны в примерах расчета **табл. 1**.

Как следует из результатов, представленных в табл. 1, расчет бляшек в разведении 10^{-6} позволил получить адекватные результаты значений показателя «Специфическая активность» на культурах клеток Vero и 4647. Полученные результаты коррелировали со значением показателя «Специфическая активность» ФСО, полученного при проведении испытания на ХАО развивающихся куриных эмбрионов $3,8 \pm 2,5 \times 10^8$ ООЕ/мл.

3. При проведении тестового эксперимента при просмотре в микроскоп на этапе первичной (контактной) инкубации планшетов в CO_2 -инкубаторе при температуре 37 ± 1 °C в течение 60 мин, в не-

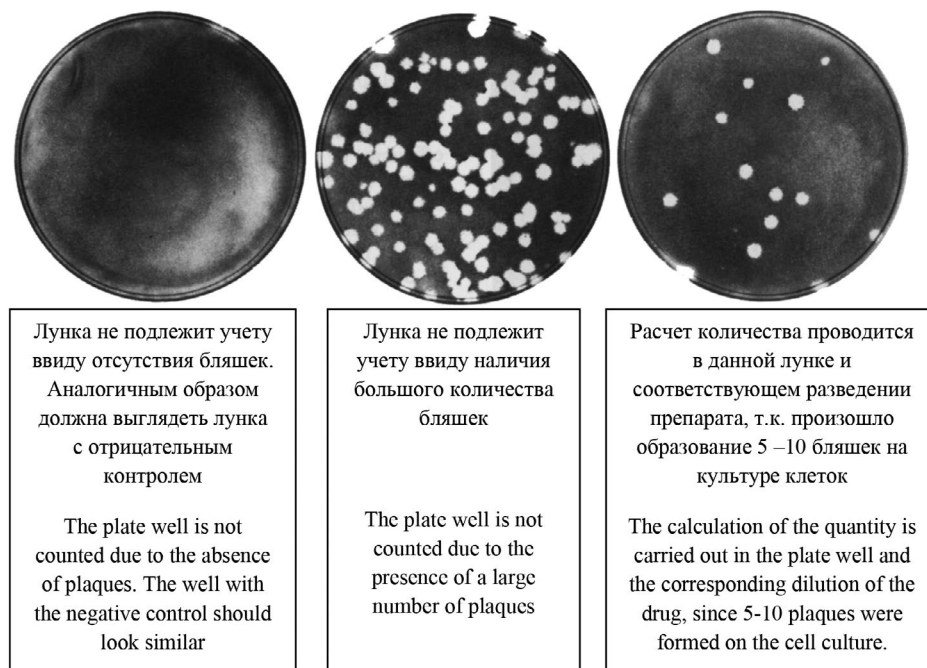


Рис. 1. Учет результатов бляшкообразования.

Fig. 1. Interpretation of the results of plaque formation.

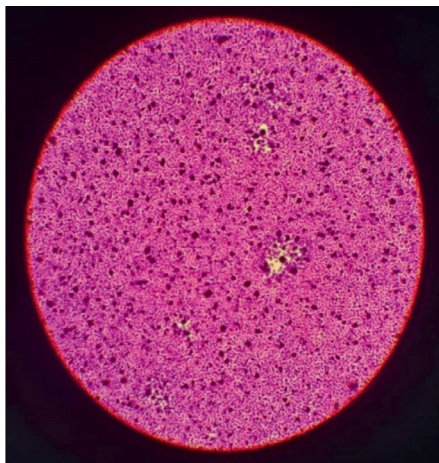


Рис. 2. Бляшки под микроскопом при увеличении 4 (общее увеличение 40).

Fig. 2. Plaques under a microscope at magnification $\times 4$ (total magnification $\times 40$).

которых случаях были обнаружены очаги частичного разрушения и дегенерации клеточного монослоя. Данное явление может быть связано с недостаточным количеством инфицирующего материала, вносимого в каждую лунку (100 мкл), которое не покрывало всю поверхность клеточного монослоя, в результате чего монослой в процессе инкубации подвергался пересыханию и частичной дегенерации. В одном из опытов это привело к снижению значений показателя «Специфическая активность» ($1,97 \times 10^8$ и $3,5 \times 10^8$ БОЕ/мл). Таким образом, при проведении последующих экспериментов была установлена необходимость увеличения инфициру-

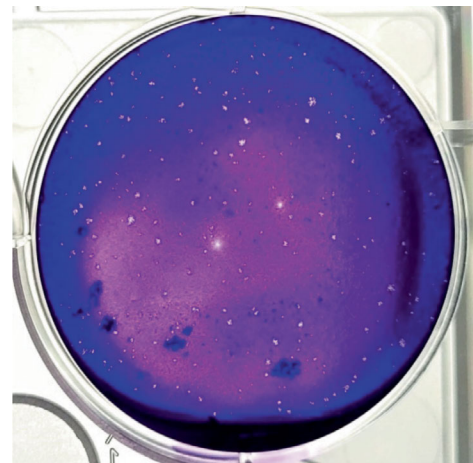


Рис. 3. Бляшки в лунке планшета с культурой клеток 4647.

Fig. 3. Plaques in the plate well with cell culture 4647.

ющей дозы до 300 мкл для разведений ФСО на этапе инфицирования культуры клеток.

Минимальные и максимальные значения показателя «Специфическая активность» на культуре клеток Vero составили от $1,97 \times 10^8$ до $5,20 \times 10^8$ БОЕ/мл, а на культуре клеток 4647 – от $3,5 \times 10^8$ до $5,20 \times 10^8$ БОЕ/мл, что показало их сходимость.

Исследование с применением 1 Международного стандартного образца оспенной вакцины

Основанием для проведения опыта на культурах клеток с применением МСО (The 1st International Stan-

Таблица 1. Примеры расчета бляшек на культуре клеток Vero и 4647
Table 1. Examples of plaque calculation in Vero and 4647 cell culture

Разведения ФСО Dilutions of Pharmacopoeia standard	Количество бляшек на культуре клеток Plaque count on cell culture				Значение показателя «Специфическая активность», БОЕ/мл Specific activity, Plaque-forming units/mL
	Исполнитель 1 Operator 1 (n = 3)	Исполнитель 2 Operator 2 (n = 3)	Исполнитель 3 Operator 3 (n = 3)	Среднее значение и стандартное отклонение Mean value and standard deviation (n = 9)	
Культура клеток Vero Cell culture Vero					
10 ⁻⁶	50,0	50,0	19,7	39,9 ± 17,5	4,0 × 10 ⁸
10 ⁻⁷	9,3	4,7	7,0	7,0 ± 2,3	0,7 × 10 ⁹ или / or 7,0 × 10 ⁸
10 ⁻⁸	0,3	1,3	0,5	0,7 ± 0,5	–
Культура клеток 4647 Cell culture 4647					
10 ⁻⁶	50,0	50,0	34,7	45 ± 8,8	4,5 × 10 ⁸
10 ⁻⁷	8,7	11,7	5,0	8,5 ± 3,4	0,8 × 10 ⁹ или / or 8,0 × 10 ⁸
10 ⁻⁸	0,3	4,3	0,3	1,6 ± 2,3	–

dard for Smallpox Vaccine, NIBSC, кат. № SMV) была возможность его использования, указанная в инструкции. Аттестованной характеристикой МСО является значение LD₅₀ на культуре клеток, значение которой составляет 10^{5,8} в 1 мл (1963 г.)³. Исходя из данных литературы, аттестация МСО проводилась в 1963 г. с применением клеточной культуры KB (KB Hela – клетки карциномы шейки матки человека) и первично-трипсинизированной культуры клеток куриного эмбриона [3]. В связи с тем, что МСО охарактеризован культуральным методом, это являлось дополнительной возможностью для проведения оценки ФСО ГФ РФ 3.2.00113 культуральным методом и удовлетворяло требованиям, предъявляемым при установлении аттестуемых характеристик стандартных образцов [4]. Однако ввиду того, что аттестация МСО проходила в 1963 г., применялись другие культуры клеток, а также иная характеристика количественной оценки (LD₅₀, а не БОЕ/мл), можно предположить, что нами могут быть получены иные результаты и их учет будет целесообразно проводить по фактическим данным.

В опыте были исследованы такие валидационные характеристики, как специфичность, правильность, линейность, была проведена сравнительная оценка получаемых результатов при разных способах восстановления исследуемых образцов ФСО ГФ РФ 3.2.00113, сравнительная оценка результатов, полученных при использовании различных инфицирующих доз. Схема исследования представлена на рис. 4, 5.

Определение валидационных характеристик

Определение специфичности

Определение специфичности (подлинности) заключалось в сравнении специфических поражений – бля-

шек, полученных при инфицировании монослоя клеток Vero и 4647 разведениями МСО и ФСО.

При определении специфичности были получены результаты, соответствующие следующим критериям приемлемости:

- при инфицировании культур клеток Vero и 4647 разведениями МСО и ФСО наблюдалось образование специфических образований – бляшек, схожих по морфологии;
- в отрицательном контроле у 3 исполнителей во всех опытах были получены отрицательные результаты.

Результаты опыта представлены на рис. 6.

На основании полученных результатов и соответствия образцов ФСО установленным критериям приемлемости можно сделать вывод о том, что валидационная характеристика «Специфичность (подлинность)» подтверждена и методика может быть применима с целью определения аналогичного показателя ФСО ГФ РФ 3.2.00113.

Определение повторяемости (сходимости) и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности

С целью подтверждения повторяемости (сходимости) был установлен следующий критерий приемлемости:

- количество бляшек, образованных вирусом осповакцины при воспроизведении испытания исполнителем в разных разведениях, позволяет получить сходимые результаты (n = 3 при внесении одного разведения в 3 лунки 1 исполнителем). Всего в опыте было использовано 3 разведения (10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶ для МСО). Аналогичный опыт был проведен каждым из 3 исполнителей.

С целью подтверждения внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности был установлен критерий приемлемости:

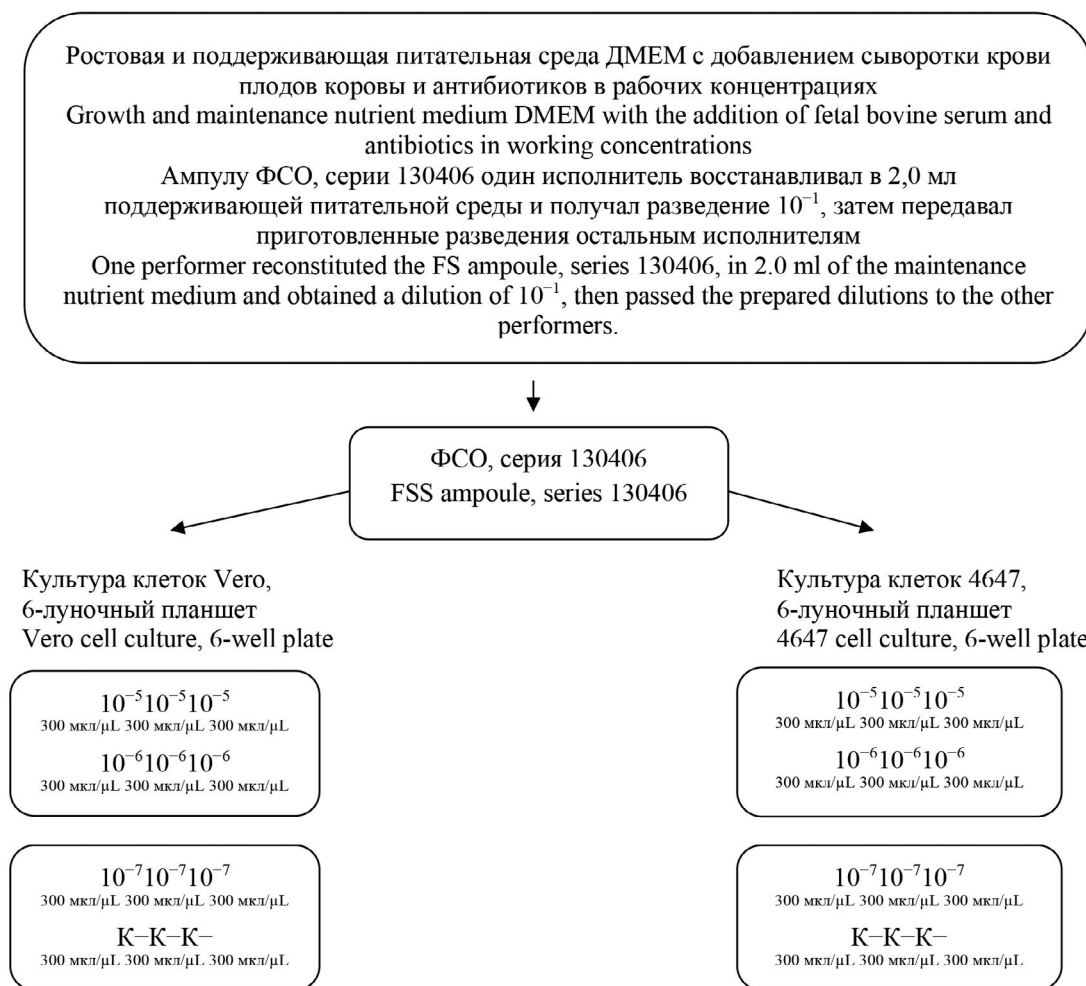


Рис. 4. Схема исследования с Фармакопейным стандартным образцом.

Fig. 4. Scheme of the research using Pharmacopoeial standard.

– результаты не менее 3 определений показателя «Специфическая активность» каждым из 3 исполнителей отдельно для каждой культуры клеток Vero и 4647 позволяет получить сходимые данные.

Полученные результаты представлены в **табл. 2**.

В опыте при приготовлении разведений МСО одним исполнителем и последующим инфицированием культур клеток Vero и 4647 разными исполнителями были подтверждены 2 валидационные характеристики, а именно:

1. *Повторяемость (сходимость)*. Были получены сходимые результаты не менее 3 определений у каждого из 3 исполнителей на каждом из 3 уровней определяемых величин при испытании МСО:

– для разведения 10^{-4} количество бляшек, образованных вирусом осповакцины, в каждой из трех лунок составило более 100 штук (для культуры клеток Vero и 4647);

– для разведения 10^{-5} количество бляшек, образованных вирусом осповакцины, в каждой из трех лунок составило в среднем 89 штук (для культуры клеток Vero) и в среднем 47 штук (для культуры клеток 4647);

– для разведения 10^{-6} количество бляшек, образованных вирусом осповакцины, в каждой из трех лунок составило в среднем 14 штук (для культуры клеток Vero) и в среднем 5 штук (для культуры клеток 4647).

2. *Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность*. Были получены сходимые результаты при определении показателя «Специфическая активность» культуральным методом при испытании МСО каждым из 3 исполнителей:

– на культуре клеток Vero среднее значение показателя составило $0,5 \times 10^8$ БОЕ/мл, стандартное отклонение – 0,14 (исполнитель 1 – $0,52 \times 10^8$ БОЕ/мл; исполнитель 2 – $0,58 \times 10^8$ БОЕ/мл; исполнитель 3 – $0,31 \times 10^8$ БОЕ/мл);

– на культуре клеток 4647 среднее значение показателя составило $0,2 \times 10^8$ БОЕ/мл, стандартное отклонение – 0,06 (исполнитель 1 – $0,23 \times 10^8$ БОЕ/мл; исполнитель 2 – $0,1 \times 10^8$ БОЕ/мл; исполнитель 3 – $0,15 \times 10^8$ БОЕ/мл).

Таким образом, на основании полученных результатов при испытании МСО были подтверждены валидационные характеристики методики «Повторяе-

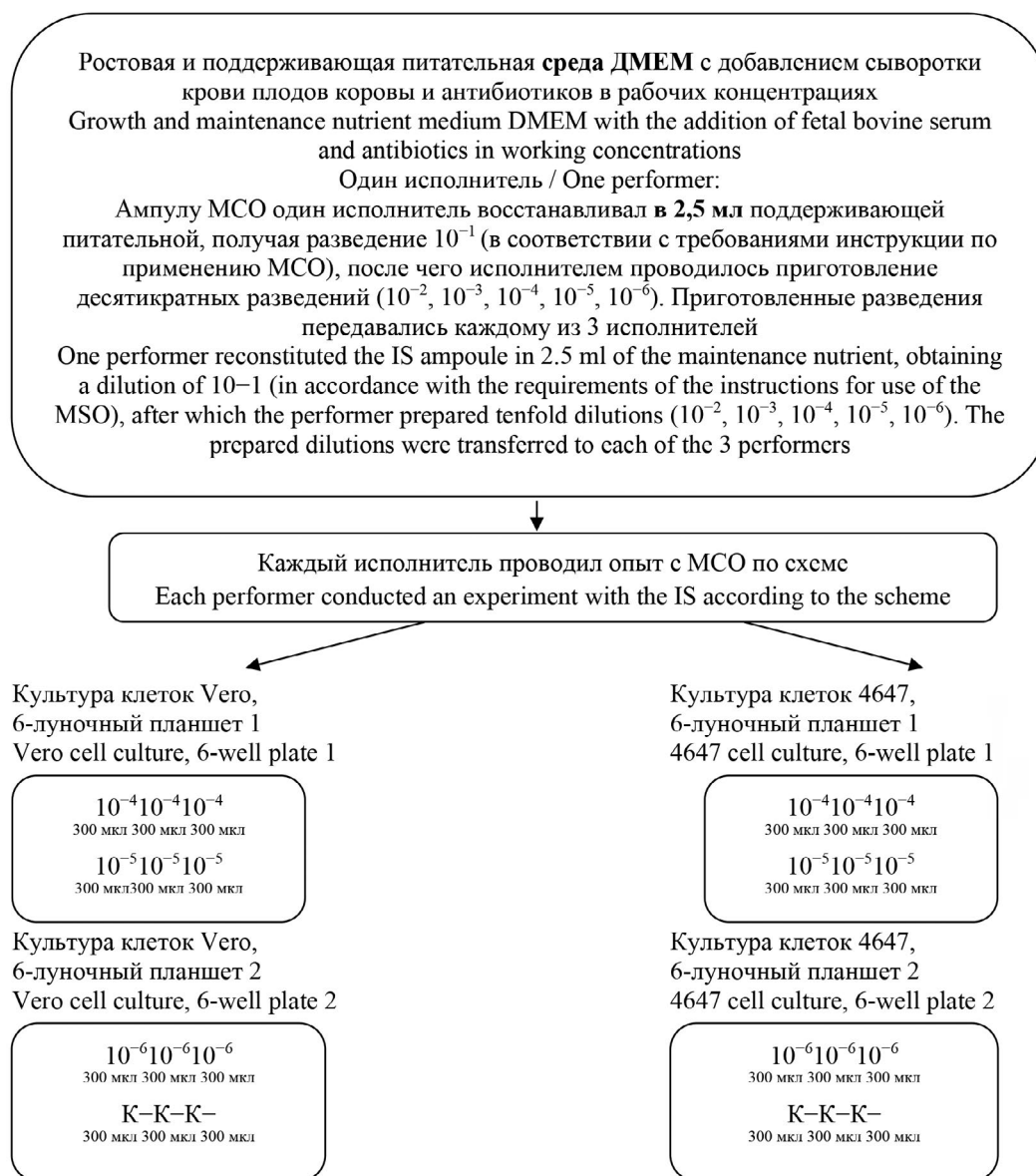


Рис. 5. Схема исследования с Международным стандартным образцом.

Fig. 5. Research Scheme of the research using International Standard.

мость (сходимость)» и «Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность».

Определение линейности

В одной повторности одним исполнителем с целью определения линейности были использованы разведения 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} при инфицировании культур клеток Vero и 4647 (рис. 6).

Критерием приемлемости при определении линейности было установлено наличие линейной зависимости количества специфических поражений (бляшек) на культурах клеток Vero и 4647 при инфицировании клеточного монослоя разными разведениями МСО.

Как следует из результатов, представленных на рис. 6, при внесении разных концентраций (разведе-

ний) МСО на культуры клеток Vero и 4647 образуются специфические поражения – бляшки, количество которых пропорционально внесенной концентрации испытуемого образца, что свидетельствует о линейности методики.

С целью оценки валидационной характеристики «Линейность» на основании результатов расчета количества специфических поражений (бляшек) на культурах клеток Vero и 4647 при инфицировании клеточного монослоя разными разведениями МСО была построена диаграмма, а также вычислена величина достоверности аппроксимации R^2 (коэффициент детерминации). При испытании разведений МСО на культурах клеток Vero и 4647 коэффициент детерминации находился в пределах 0,954 и 0,951 соответственно, что подтвердило линейность методики.

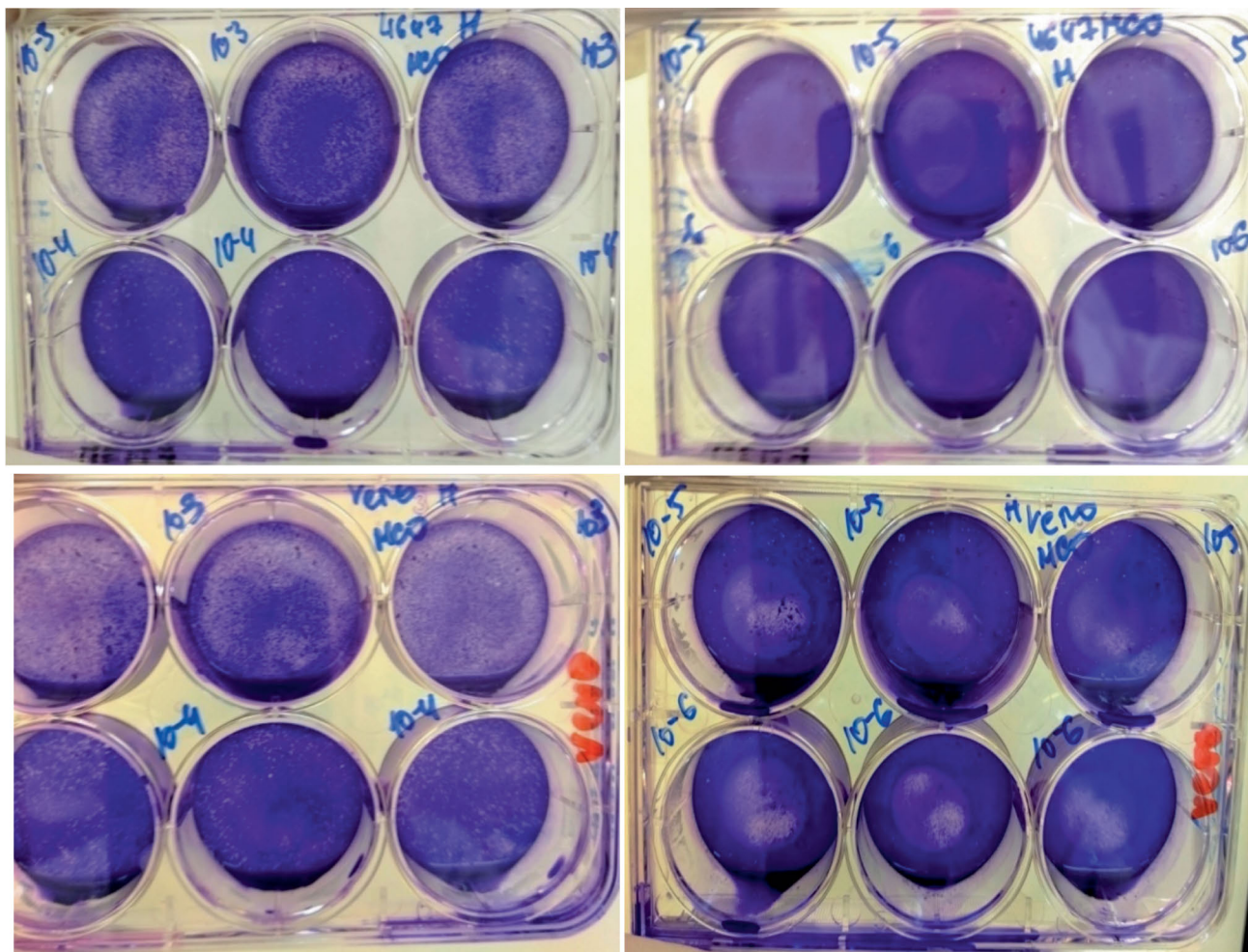


Рис. 6. Культуры клеток Vero и 4647 инфицированные разведениями МСО.

Fig. 6. Cell cultures Vero и 4647 infected with dilutions of International standard.

Определение правильности

С целью определения правильности в опыте с применением МСО, на основании требований Европейской фармакопеи 11.0 издания⁷ был установлен следующий критерий приемлемости:

– валидируемая методика признается правильной, если значения показателя «Специфическая активность» исследуемых образцов, полученные 3 исполнителями, не отличаются друг от друга более чем на $\pm 0,5 \log$ БОЕ/мл.

Для оценки правильности оценивались значения показателя «Специфическая активность» МСО и ФСО ГФ РФ 3.2.00113, полученные 3 исполнителями. Результаты представлены в **табл. 3**.

Как видно из табл. 3, значения показателя «Специфическая активность» исследуемых образцов МСО и ФСО ГФ РФ 3.2.00113, полученные 3 исполнителями и выраженные в единицах логарифма

концентрации, не отличались друг от друга более чем на $\pm 0,5 \log$ БОЕ/мл, правильность методики подтверждена.

Таким образом, в опыте с применением МСО были подтверждены следующие валидационные характеристики методики определения показателей «Специфичность (подлинность)» и «Специфическая активность» культуральным методом:

- специфичность;
- повторяемость (сходимость);
- внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность;
- линейность;
- правильность.

С целью дальнейшей отработки методики при определении показателей «Специфичность (подлинность)» и «Специфическая активность» с применением культурального метода было проведено 3 основных этапа (аналитических цикла), состоящих из не менее чем 3 опытов. Выполнение каждого этапа проводилось каждым из 3 исполнителей. При испытаниях варьировались способы восстановления образцов, составы ростовых и поддер-

⁷European Pharmacopoeia 11.0.04/2022:0164 corrected 11.0 «Smallpox vaccine (Live)». Доступно по: <https://pheur.edqm.eu/home> (дата обращения: 11.05.2025)

Таблица 2. Результаты определения показателя «Специфическая активность» МСО на культурах клеток**Table 2.** The results of the determination of the indicator “Specific activity” of International Standard in cell cultures

Наименование культуры клеток Cell culture	Объем инфицирующей дозы The volume of infectious dose	Исполнитель Operator	Разведения МСО Dilutions of International standard	Количество бляшек на культуре клеток Pock-count on cell culture	Значение показателя «Специфическая активность», БОЕ/мл Specific activity, Plaque-forming units/mL	Среднее значение/стандартное отклонение Mean value/standard deviation
Vero	300 мкл / μL	1	10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	$0,5 \times 10^8/0,14$
			10^{-5}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	
			10^{-6}	16; 18; 13	$0,52 \times 10^8$	
			10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	
			10^{-5}	85; 90; 95	Не учитывается	
			10^{-6}	18; 17; 17	$0,58 \times 10^8$	
		3	10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	
			10^{-5}	78; 71; 81	Не учитывается	
			10^{-6}	10; 8; 10	$0,31 \times 10^8$	
4647	300 мкл / μL	1	10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	$0,2 \times 10^8/0,06$
			10^{-5}	54; 46; 50	Не учитывается	
			10^{-6}	7; 6; 8	$0,23 \times 10^8$	
		2	10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	
			10^{-5}	56; 57; 51	Не учитывается	
			10^{-6}	4; 4; 4	$0,1 \times 10^8$	
		3	10^{-4}	Более 100; более 100; более 100	Не учитывается	
			10^{-5}	38; 35; 39	Не учитывается	
			10^{-6}	5; 4; 5	$0,15 \times 10^8$	

живающих питательных сред, время инкубации инфицированных культур клеток.

На 1-м этапе (аналитическом цикле) для работы с культурами клеток использовалась среда Игла MEM с двойным набором аминокислот и стабильным L-глутамином с добавлением сыворотки крови плодов коровы и антибиотиков в рабочих концентрациях.

Во 2-м аналитическом цикле для работы с культурами клеток использовалась среда DMEM с добавлением сыворотки крови плодов коровы и антибиотиков в рабочих концентрациях.

В 3-м аналитическом цикле применяли среду RPMI с добавлением сыворотки крови плодов коровы и антибиотиков в рабочих концентрациях.

Средние результаты, полученные 3 исполнителями при выполнении 3 аналитических циклов, представлены в табл. 4.

Как следует из результатов, при восстановлении образцов в 2,0 мл поддерживающей питательной среды на культуре клеток Vero и 4647 с целью получения раз-

ведения 10^{-1} были получены сопоставимые данные. Значение показателя «Специфическая активность» при испытании на культурах клеток Vero и 4647 составляло $3,65 \times 10^8$ и $3,61 \times 10^8$ БОЕ/мл соответственно (при округлении можно установить значение показателя «Специфическая активность» $3,6 \times 10^8$ БОЕ/мл для 2 культур клеток) в случае инкубации инфицированных планшетов в течение 3 сут. При инкубации инфицированных планшетов в течение 2 сут среднее значение показателя «Специфическая активность» на культуре клеток 4647 было ниже и составило $1,0 \times 10^8$ БОЕ/мл, тогда как значение показателя «Специфическая активность», полученное с применением культуры клеток Vero, составило $1,8 \times 10^8$ БОЕ/мл.

При использовании дополнительного разведения при восстановлении образцов в 1,0 мл поддерживающей питательной среды для получения разведения 10^0 (по аналогии с пробоподготовкой препарата «ОртопоксВак») и последующим приготовлением 10-кратных разведений результаты значений по-

Таблица 3. Результаты оценки правильности при определении показателя «Специфическая активность» МСО и ФСО ГФ РФ 3.2.00113 на культурах клеток**Table 3.** The results of the assessment of correctness in determining the indicator “Specific activity” of the International standard and Pharmacopeia standard 3.2.00113 in cell cultures

Наименование культуры клеток Cell culture	Исполнитель Operator	Логарифм концентрации значения показателя «Специфическая активность» МСО, Log ₁₀ БОЕ/мл Log ₁₀ concentration specific activity of International standard, Log ₁₀ Plaque-forming units/mL	Стандартное отклонение Standard deviation	Логарифм концентрации значения показателя «Специфическая активность» ФСО, Log ₁₀ БОЕ/мл Log ₁₀ of concentration specific activity of Pharmacopeia standard, Log ₁₀ Plaque-forming units/mL	Стандартное отклонение Standard deviation
Vero	1	7,71	0,14	8,32	0,06
	2	7,76		8,20	
	3	7,49		8,23	
4647	1	7,36	0,18	8,17	0,17
	2	7,00		7,90	
	3	7,17		7,84	

Таблица 4. Результаты испытаний по показателю «Специфическая активность» ФСО ГФ РФ 3.2.00113 на культурах клеток Vero и 4647**Table 4.** Test results for the indicator “Specific activity” of Pharmacopeia standard 3.2.00113 on Vero and 4647 cell cultures

Особенности методики	Значение показателя «Специфическая активность», на культуре клеток Vero, БОЕ/мл Specific activity on cell culture Vero Plaque-forming units/mL		Значение показателя «Специфическая активность», на культуре клеток 4647, БОЕ/мл Specific activity on cell culture 4647 Plaque-forming units/mL	
	Инкубация инфицированных планшетов в течение 2 сут	Инкубация инфицированных планшетов в течение 3 сут	Инкубация инфицированных планшетов в течение 2 сут	Инкубация инфицированных планшетов в течение 3 сут
Восстановление образцов в 2,0 мл поддерживающей питательной среды для получения разведения 10 ⁻¹ и последующим приготовлением разведений в соответствии с требованиями ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 «Вакцина оспенная живая»	1,80 × 10 ⁸ стандартное отклонение 0,3 (p = 0,25)	3,65 × 10 ⁸ стандартное отклонение 1,2 (p = 0,12)	1,01 × 10 ⁸ стандартное отклонение 0,4 (p = 0,17)	3,61 × 10 ⁸ стандартное отклонение 1,1 (p = 0,13)
Восстановление образцов в 1,0 мл поддерживающей питательной среды для получения разведения 10 ⁰ и последующим приготовлением разведений в соответствии с требованиями ГФ РФ, ФС. 3.3.1.0033.15 «Вакцина оспенная живая»	1,3 × 10 ⁸ стандартное отклонение 0,7 (p = 0,23)	1,7 × 10 ⁸ стандартное отклонение 0,9 (p = 0,21)	0,5 × 10 ⁸ стандартное отклонение 0,3 (p = 0,05)	1,1 × 10 ⁸ стандартное отклонение 1,1 (p = 0,04)

казателя «Специфическая активность» были ниже, что является закономерным. При инкубации инфицированных планшетов в течение 3 сут на культуре клеток Vero значение показателя «Специфическая активность» составило $1,7 \times 10^8$ БОЕ/мл, а на культуре клеток 4647 – $1,1 \times 10^8$ БОЕ/мл (значение показателя культуре клеток 4647 было в 1,5 раза ниже). При инкубации инфицированных планшетов в течение 2 сут наблюдалась аналогичная тенденция. Значение показателя «Специфическая активность» на культуре клеток Vero составило $1,3 \times 10^8$ БОЕ/мл, а на культуре клеток 4647 – $0,5 \times 10^8$ БОЕ/мл (значение показателя культуре клеток 4647 было в 2,6 раза ниже). Однако при использовании дополнительного разведения 10⁰ для восстановления образцов были отмечены неоднозначные результаты значений стандартных отклонений. Распределение результатов было нормальным во всех случаях, за исключением результатов, по-

лученных на культуре клеток 4647 при приготовлении предварительного разведения 10⁰ после инкубирования инфицированных планшетов в течение 3 сут.

Обсуждение

В соответствии с результатами, полученными при аттестации ФСО ГФ РФ 3.2.00113 с применением фармакопейных методик, подтверждены его основные аттестованные характеристики. По итогам работы оформлены паспорт и инструкция по применению, срок годности ФСО составил 1 год.

При оценке возможности испытания ФСО ГФ РФ 3.2.00113, ГФ РФ 3.2.00113 по показателям «Специфичность (подлинность)» и «Специфическая активность» культуральным методом можно сделать следующие выводы:

1. Установлено, что возможно проведение испытаний ФСО ГФ РФ 3.2.00113 по показателям «Специ-

фичность (подлинность)» и «Специфическая активность» с применением культурального метода.

2. При испытании по показателю «Специфичность (подлинность)» во всех проведенных исследованиях наблюдалось образование специфических образований – бляшек при инфицировании культур клеток Vero и 4647 разведениями ФСО 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , что подтверждает возможность испытаний с применением данного метода.

3. В 3 аналитических циклах с применением различных питательных сред были получены сходимые и воспроизводимые результаты. Было установлено, что наиболее приемлемые результаты получаются при восстановлении образцов в 2,0 мл поддерживающей питательной среды для получения разведения 10^{-1} и последующим приготовлением разведений в соответствии с требованиями ГФ РФ, ФС.3.3.1.0033.15 «Вакцина оспенная живая» и последующей инкубацией в течение не менее 3 сут (не менее 72 ч) до получения результатов.

4. Расчет показателя «Специфическая активность» целесообразно проводить в разведении, где количество образованных бляшек составляет 5–10 и более штук (при исследовании ФСО ГФ РФ 3.2.00113 определение показателя «Специфическая активность» проводилось в разведении 10^{-6}). С целью получения воспроизводимых результатов объем инфицирующих разведений, вносимый в лунки 6-луночного планшета, должен составлять 0,3 мл перед инкубацией в течение 60 мин в CO_2 -инкубаторе. В опытах целесообразно использования разведений ФСО 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . При последующих расчетах целесообразно проводить пересчет значения показателя «Специфическая активность» на инфицирующую дозу (0,3 мл).

5. При валидации методики с применением МСО были подтверждены такие валидационные характеристики методики, как специфичность, повторяемость (сходимость), внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность, линейность, правильность.

В ходе исследования была подтверждена возможность использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода. На основании полученных результатов были установлены следующие критерии приемлемости методики определения показателей «Специфичность (подлинность)» и «Специфическая активность» культуральным методом:

1. При учете результатов в клетках, не инфицированных разведениями ФСО (отрицательный контроль), не должно наблюдаться признаков цитопатогенного действия, клеточной дегенерации, образования специфических поражений.

2. Расчет показателя «Специфическая активность» целесообразно проводить в разведении, где количество образованных бляшек составляет 5–10 и более штук.

3. При испытании должно быть подтверждено значение показателя «Специфическая активность», уста-

новленное культуральным методом, выраженную в виде аттестованного значения ($\bar{X}_{\text{ср}}$) при доверительной вероятности 0,95, а также расширенной неопределенности (U), которую вычисляют как $\pm 2S$ от среднего значения (коэффициент охвата $k = 2$, уровень доверия 95%).

Возможно внесение обоснованных дополнений и изменений в установленные критерии приемлемости в ходе проведения последующих испытаний с применением культурального метода.

Заключение

Проведена аттестация фармакопейного стандартного образца активности, специфичности и некротической активности оспенной вакцины по основным аттестуемым характеристикам. Был установлен срок годности 1 год – до 31.12.2025. При исследовании ФСО подтверждена возможность использования новой методики определения специфической активности, специфичности (подлинности) с применением культурального метода, установлены основные критерии приемлемости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мухачева А.В., Перекрест В.В., Мовсисянц А.А., Саркисян К.А., Бутырский А.Ю., Фадейкина О.В. и др. Результаты переаттестации отраслевого стандартного образца и использование его при экспертизе качества вакцин против натуральной оспы. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(6): 70–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-6-70-79> <https://elibrary.ru/xemezv>
2. Щелкунов С.Н., Якубский С.Н., Титова К.А., Пьянков С.А., Шульгина И.С., Старостина Е.В. и др. Атенуированный и высокоиммуногенный вариант вируса осповакцины. *Acta Naturae*. 2024; 16(2): 82–9. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27384> <https://elibrary.ru/kcsbn>
3. Krag P., Bentzon M.W. The international reference preparation of smallpox vaccine. An international collaborative assay. *Bull. World Health Organ*. 1963; 29(3): 299–309.
4. Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Устинникова О.Б., Саркисян К.А., Мовсисянц А.А., Меркулов В.А. и др. Требования к материалам раздела по стандартным образцам, представляемым в досье на биологические лекарственные средства. *БИО препараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024; 24(1): 7–20. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-1-7-20>

REFERENCES

1. Mukhacheva A.V., Perekrst V.V., Movsesyants A.A., Sarkisyan K.A., Butyrskii A.Yu., Fadeikina O.V., et al. The results of re-certification of reference standard sample used for the examination of quality smallpox vaccines. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2016; 15(6): 70–9. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-6-70-79> <https://elibrary.ru/xemezv> (in Russian)
2. Shchelkunov S.N., Yakubitskiy S.N., Titova K.A., Pyankov S.A., Shulgina I.S., Starostina E.V., et al. An attenuated and highly immunogenic variant of the vaccinia virus. *Acta Naturae*. 2024; 16(2): 82–9. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.27384> <https://elibrary.ru/kcsbn> (in Russian)
3. Krag P., Bentzon M.W. The international reference preparation of smallpox vaccine. An international collaborative assay. *Bull. World Health Organ*. 1963; 29(3): 299–309.
4. Volkova R.A., Fadeikina O.V., Ustinnikova O.B., Sarkisyan K.A., Movsesyants A.A., Merkulov V.A., et al. Requirements for the information on reference standards submitted in the dossier for biologicals. *BIO preparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. 2024; 24(1): 7–20. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-1-7-20> (in Russian)

Информация об авторах:

Мухачева Анастасия Вячеславовна✉ – главный эксперт лаборатории вирусных вакцин ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: muhacheva@expmed.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0769-6867>

Баранова Екатерина Владимировна – эксперт 2-й категории лаборатории вирусных вакцин ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: baranovae@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0001-7598-8936>

Богрянцева Марина Поликарповна – канд. биол. наук, заведующая отделом биологического и технологического контроля ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: bogryantseva@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0467-5024>

Нечаева Елена Августовна – канд. мед. наук, заместитель генерального директора по научной и производственной работе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: nechaeva@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6901-7738>

Смолина Маргарита Петровна – начальник лаборатории разработки и контроля ИПП отдела клеточных технологий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия. E-mail: smolina_mp@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0009-0005-1859-7065>

Саркисян Каринэ Арташесовна – канд. мед. наук, начальник лаборатории вирусных вакцин ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: sarkisyan@expmed.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Яндимирова Снежана Сергеевна – ведущий эксперт лаборатории вирусных вакцин ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: yandimirovass@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0008-8196-5926>

Шубина Елена Александровна – инженер-лаборант лаборатории вирусных вакцин ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Москва, Россия. E-mail: shubinaea@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9535-9145>

Участие авторов: Мухачева А.В. – концепция и дизайн исследования, планирование и проведение экспериментов, сбор, анализ и интерпретация данных, подготовка текста; Баранова Е.В. – проведение экспериментов, работа с клеточными культурами; Богрянцева М.П. – участие при разработке методики, утверждение стандартных операционных процедур и нормативных документов, инициация проведения исследования, оказание методической помощи при совместном исследовании, анализ и интерпретация данных, участие в подготовке текста; Нечаева Е.А. – участие в разработке методики, участие в разработке и утверждении стандартных операционных процедур на производстве, оказание методической помощи при совместном исследовании; Смолина М.П. – участие в разработке методики, участие в разработке и утверждении стандартных операционных процедур, оказание методической помощи при совместном исследовании, консультирование по этапам проведения испытаний; Саркисян К.А. – концепция и дизайн исследования, планирование экспериментов, анализ и интерпретация данных, участие в подготовке текста; Яндимирова С.С. – планирование и проведение экспериментов, приготовление основных и вспомогательных растворов для экспериментов; Шубина Е.А. – планирование и проведение экспериментов, работа с клеточными культурами.

Поступила 21.06.2025
Принята в печать 14.08.2025
Опубликована 30.08.2025

Information about the authors:

Anastasia V. Muhacheva✉ – Chief expert of viral vaccines laboratory, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia. E-mail: muhacheva@expmed.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0769-6867>

Ekaterina V. Baranova – 2 category expert of viral vaccines laboratory, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia. E-mail: baranovae@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0001-7598-8936>

Marina P. Bogryantseva – Cand. Sci. (Biol.), Chief of biological and technological control department, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: bogryantseva@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0467-5024>

Elena A. Nechaeva – Cand. Sci. (Med.), Deputy director general for science and production, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: nechaeva@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-6901-7738>

Margarita P. Smolina – Chief of the development and control laboratory the immunobiological medicines cell culture department State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia. E-mail: smolina_mp@vector.nsc.ru; <https://orcid.org/0009-0005-1859-7065>

Karine A. Sarkisyan – Cand. Sci. (Med.), Chief of the viral vaccines laboratory, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia. E-mail: sarkisyan@expmed.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0445-7086>

Snezhana S. Jandimirova – leading expert of viral vaccines laboratory, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia. E-mail: yandimirovass@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0008-8196-5926>

Elena A. Shubina – Laboratory engineer of viral vaccines laboratory, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Moscow, Russia. E-mail: shubinaea@expmed.ru; <https://orcid.org/0009-0007-9535-9145>

Contribution: Muhacheva A.V. – research concept and design, planning and conducting of experiments, collection, analysis and interpretation of results, text preparation; Baranova E.V. – experiments, working with cell cultures; Bogryantseva M.P. – development of technique, approval of standard operating procedures and regulatory documents, initiation of research, help on collaborative research, analysis and interpretation of results, text preparation; Nechaeva E.A. – development of technique, approval of standard operating procedures in the workplace, help on collaborative research; Smolina M.P. – development of technique, approval of standard operating procedures, help on collaborative research, consultation on research phases; Sarkisyan K.A. – research concept and design, planning and conducting of experiments, analysis and interpretation of results, text preparation; Jandimirova S.S. – planning and conducting of experiments, preparing of solutions for experiments; Shubina E.A. – planning and conducting of experiments, working with cell cultures.

Received 21 June 2025
Accepted 14 August 2025
Published 30 August 2025