

УДК [579.841.93:616.98-078]:601.2

## **ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА И ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ДИАГНОСТИКУМА БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ЖИДКОГО ДЛЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ, СУСПЕНЗИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ**

**Куличенко А.Н., Зуенко А.А., Коготкова О.И., Гридина Т.М., Лямкин Г.И.,  
Ляпустина Л.В.**

*ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора (355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15), e-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)*

В связи со сложной эпизоотолого-эпидемиологической обстановкой по бруцеллезу существует постоянная потребность учреждений санитарно-эпидемиологической службы и практического здравоохранения в медицинских иммунобиологических препаратах для лабораторной диагностики данной инфекции. Для серологической диагностики бруцеллеза широко используют диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации, суспензию для диагностических целей. Представлены результаты изучения стабильности производства и основных показателей качества диагностикума бруцеллезного при его длительном хранении и при воздействии на него высоких температур, которые свидетельствуют о возможности увеличения срока годности препарата и о расширении температурного режима его транспортирования. Экспериментально доказано, что специфическая активность препарата сохраняется в течение 3 лет (срок наблюдения). Результаты аттестации критических подпроцессов производства препарата в течение одного производственного цикла подтверждают, что биотехнологический процесс стабилен и соответствует требованиям нормативной документации.

Ключевые слова: диагностикум бруцеллезный, стабильность, качество.

## **STUDIES OF PRODUCTION STABILITY AND OF QUALITY INDEXES OF THE BRUCELLOSIS DIAGNOSTICUM, LIQUID FOR AGGLUTINATION TEST, SUSPENSIONS FOR DIAGNOSTIC PURPOSES**

**Kulichenko A.N., Zuenko A.A., Kogotkova O.I., Gridina T.M., Lyamkin G.I.,  
Lyapustina L.V.**

*The Federal Government Public Health Institution Stavropol Plague Control Institute (355035, Stavropol, street Sovetskaya, 13–15), e-mail: [snipchi@mail.stv.ru](mailto:snipchi@mail.stv.ru)*

Over the difficult epizootologic-epidemiologic situation with brucellosis, sanitary and epidemiological service and practical health-protection institutions constantly need medical immunobiological drugs for laboratory diagnostics of this infection. Liquid brucellar diagnosticum for conglutination reaction and suspension for clinical purposes are widely used for serum diagnostics of brucellosis. Presented are results of study into stability of production and key quality performance of brucellar diagnosticum, when stored for long and subject to high temperatures, that testify to the possibility of extending the drug's shelf life and on widening the range of transportation temperature. It is shown by experiments that specific activity of the drug preserves for three years (follow-up period). Results of appraisal of the drug production critical subprocesses during one production cycle prove that the biotechnological process is stable and complies with the normative documents' requirements.

Keywords: brucellosis diagnosticum, stability, quality.

### **Введение**

В настоящее время сложилась сложная эпизоотолого-эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу, имеющая тенденцию к увеличению заболеваемости этой инфекцией сельскохозяйственных животных и людей. Наиболее неблагополучными территориями Российской Федерации по бруцеллезу животных остаются Северо-Кавказский, Южный и Сибирский федеральные округа. Распространению бруцеллезной инфекции среди животных продолжает способствовать наличие скрытых бруцеллоносителей среди крупного рогатого и

мелкого рогатого скота, несвоевременная сдача положительно реагирующих и больных животных на убой, отказ от предоставления животных для проведения ветеринарных обработок, отсутствие должного контроля со стороны муниципальных органов за вводом и регистрацией нового поголовья. В результате, существует постоянная потребность учреждений санитарно-эпидемиологической службы и практического здравоохранения в медицинских иммунобиологических препаратах (МИБП), которые должны обеспечивать надлежащий уровень лабораторной диагностики данной инфекции [3]. При хранении, транспортировании и реализации медицинских изделий, предназначенных для диагностики *in vitro*, учитывают климатические зоны, в которых предполагается их использование. Территория Российской Федерации расположена в трех климатических поясах: арктическом, субарктическом и умеренном, отличающихся господствующими воздушными массами, радиационным и температурным режимами. Одним из важнейших элементов системы обеспечения качества при производстве МИБП является аттестация технологических процессов – документальное подтверждение соответствия оборудования условиям производства, технологического процесса, готового продукта и т.п., действующему регламенту и/или требованиям нормативной документации, доказывающее, что процесс, оборудование, сырье, методика действительно приводит к ожидаемым результатам [6].

Для серологической диагностики бруцеллеза широко используют диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации, суспензию для диагностических целей (далее – диагностикум бруцеллезный), представляющий собой убитую взвесь штамма *Brucella abortus* 19 ВА в 12 % растворе натрия хлорида, содержащую фенол, в качестве консерванта, и бриллиантовый зеленый, генцианвиолет, как красители. Данный препарат производится на базе ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора с 2002 г.

Целью работы явилось изучение стабильности производства и основных показателей качества диагностикума бруцеллезного для обоснования возможности увеличения срока годности препарата с двух до трех лет и расширения температурного режима его транспортирования до 14 суток при 25 °С.

### **Материалы и методы**

Проведена аттестация производства 5 критических биотехнологических подпроцессов производства семи серий (1–10, 2–10, 3–10, 4–10, 5–10, 6–10, 7–10) диагностикума бруцеллезного: выращивание производственного штамма *B. abortus* 19 ВА, обеззараживание бакмассы, контроль общей и специфической стерильности бакмассы, приготовление взвеси бакмассы с добавлением 0,5 % фенола, получение диагностикума бруцеллезного с добавлением красителей.

Аттестованы следующие биотехнологические параметры: температура инкубации производственного штамма, концентрация взвеси бакмассы, температура обеззараживания бакмассы, конечная концентрация красителей. Анализ проводили по данным маршрутных карт. Критериями аттестации рассматриваемых параметров служили повторяемость и воспроизводимость [1, 4].

Материалом для исследований послужили 26 серий диагностикума бруцеллезного, произведенного в 2008–2012 гг. (серии 1-08, 2-08, 3-08,4-08, 11-08, 1-09, 2-09, 3-09, 4-09, 1-10, 2-10, 3-10, 4-10, 5-10, 6-10, 7-10, 1-11, 2-11, 3-11, 4-11, 5-11, 1-12, 2-12, 3-12, 4-12, 5-12) в соответствии с техническими условиями № 9388-001-01897080-2007 [7].

Диагностикум бруцеллезный представляет собой гомогенную взвесь сине-голубого цвета, при хранении на дне ампулы образуется осадок сине-голубого цвета, легко разбивающийся при встряхивании, и слегка мутная надосадочная жидкость.

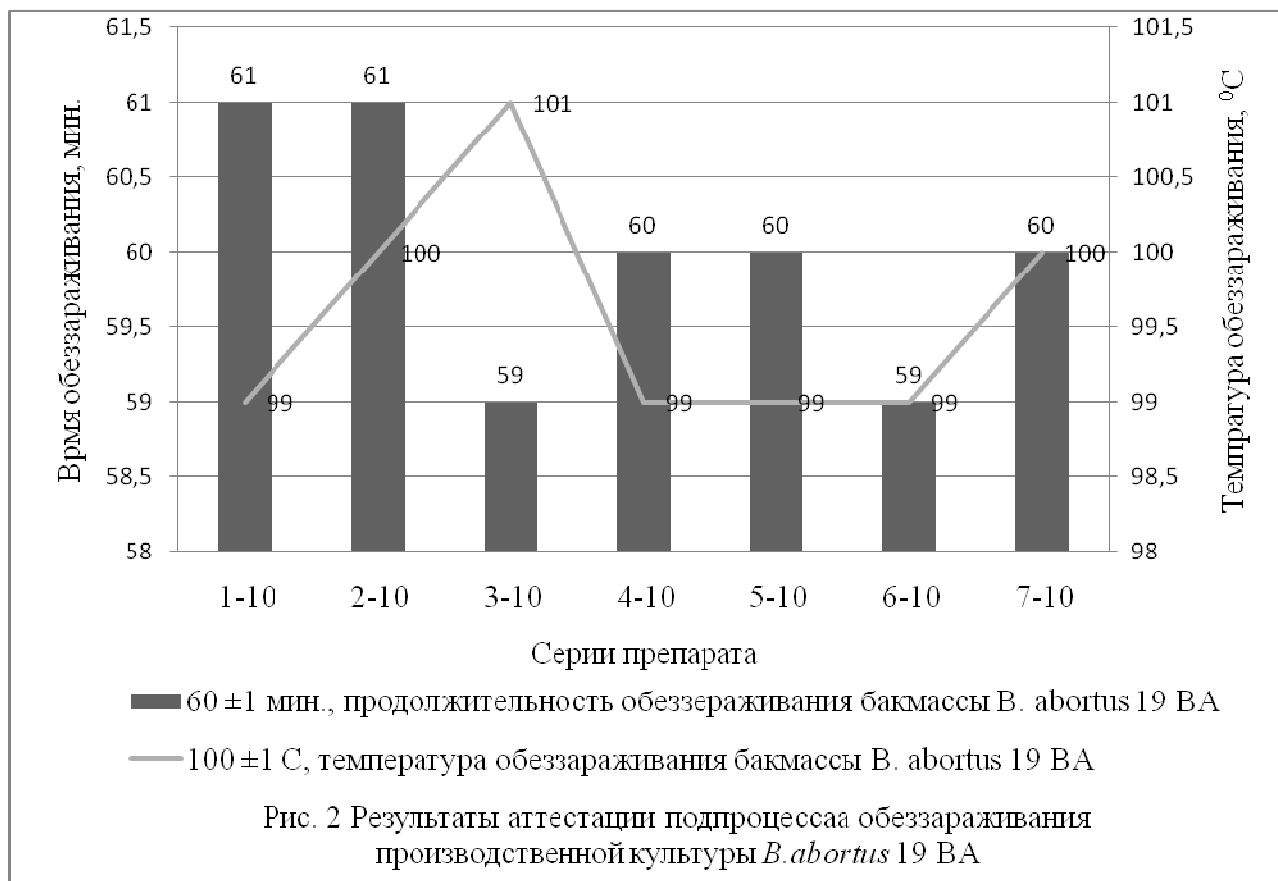
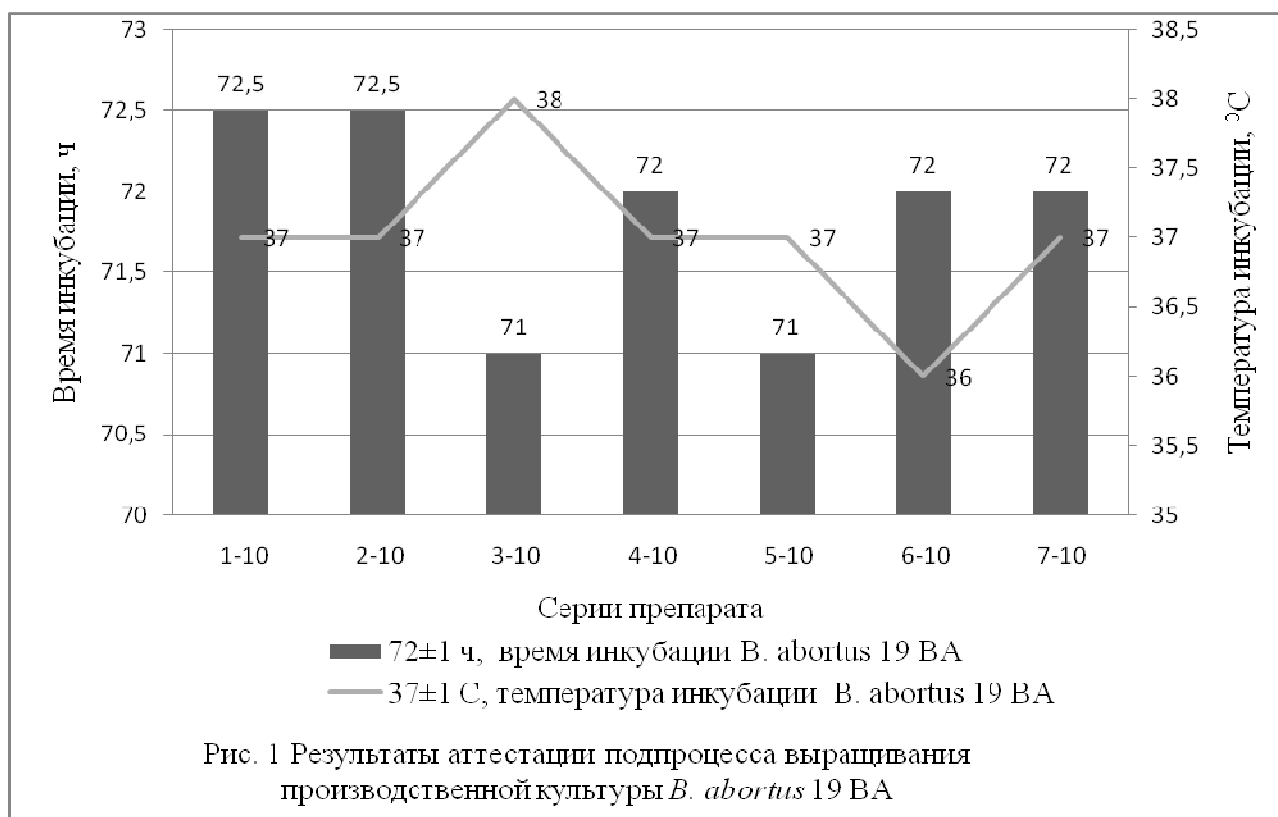
Стабильность диагностикума изучена в 14 сериях препарата со сроками хранения более 2 лет (2,5 и 3 года) при регламентированной температуре хранения от 2 до 8 °С. Изучение действия высоких температур на свойства диагностикума (внешний вид, специфическая активность) проводилось на арбитражных образцах 12 серий препарата со сроками хранения до 2 лет. Исследуемые образцы выдерживали в термостате при температуре (40 ±1) °С, (58 ±1) °С в течение 14 сут. и 21 сут. Контролем служили серии препарата, хранившиеся в течение регламентированного срока годности (2 года) при температуре от 2 до 8 °С, согласно требованиям нормативной документации.

Критериями стабильности препарата служили его внешний вид и специфическая активность [2, 5]. Специфическую активность оценивали по реакции агглютинации, согласно техническим условиям на препарат: степень агглютинации диагностикума в разведении 1:10 в пробирочной реакции с сывороткой бруцеллезной поливалентной в разведении 1:1000 должна составлять не менее 50 % (++).

### **Результаты и обсуждение**

Анализ технологических подпроцессов, в которых аттестуемым параметром является температура инкубации и обеззараживания, концентрация взвеси бакмассы, концентрация красителей показали, что средние арифметические стандартные отклонения повторяемости статистически достоверно меньше допустимого интервала разброса значений, предусмотренных промышленным регламентом производства данного МИБП. Данные, полученные при аттестации технологических подпроцессов производства диагностикума бруцеллезного, представлены на рисунках 1, 2. Различия между показателями стандартных отклонений повторяемости для верхней, средней и нижней границ значений изученных показателей статистически недостоверны ( $p < 0,05$ ), что позволяет говорить о повторяемости

и воспроизводимости рассмотренных биотехнологических подпроцессов.



Результаты аттестации критических подпроцессов производства диагностикума бруцеллезного подтверждают, что биотехнологический процесс стабилен, соответствует требованиям действующей нормативной документации. Аттестованные биотехнологические параметры повторяемы и воспроизводимы.

В результате проведенных исследований установлено, что при хранении диагностикума бруцеллезного при температуре от 2 до 8 °С более 2 лет незначительно изменяется внешний вид препарата (исходный цвет взвеси и осадка на дне ампулы с сине-голубого меняется на синий), в то же время показатели специфической активности препарата соответствовали паспортным данным и требованиям технических условий (степень агглютинации диагностикума в разведении 1:10 в пробирочной реакции с сывороткой бруцеллезной поливалентной в разведении 1:1000 составила 50 % (++)).

Высокие температуры хранения (40 ±1) °С, (58 ±1) °С в течение 14 сут. и 21 сут. не влияли на гомогенность и специфическую активность препарата. Однако повышенные температуры вызывали изменение цветности диагностикума бруцеллезного, вероятно, за счет распада бриллиантового зеленого – красителя, применяемого в биотехнологии производства препарата. Окраска взвеси и осадка на дне ампулы изменялась в опытных сериях с сине-голубого или синего цвета на сине-фиолетовый. Результаты влияния высоких температур (40±1) °С, (58±1) °С на свойства диагностикума бруцеллезного в течение 14 сут. и 21 сут. свидетельствуют о стабильности его специфической активности в реакции агглютинации и о несущественном изменении его внешнего вида.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о верификации срока годности и стабильности показателей качества диагностикума бруцеллезного, как при воздействии на него высоких температур, так и при хранении в течение 3 лет (срок наблюдения).

Полученные данные являются основанием для постановки вопроса об увеличении срока годности диагностикума бруцеллезного с двух до трех лет и расширения температурного режима его транспортирования (до 14 сут. при 25 °С).

### **Список литературы**

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Л.: Медгиз, 1962. – 180 с.
2. ГОСТ Р ЕН 13640-2010 Исследование стабильности реагентов для диагностики *in vitro*. – М.: Стандартинформ, 2011. – 8 с.

3. Лямкин Г.И., Манин Е.А., Головнева С.И., Тихенко Н.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2013. – Вып. (1). – С. 21-24.
4. Методические указания «Валидация химических и физико-химических показателей качества МИБП: порядок проведения и представление результатов» МУ 3.3.2.1886-04. – М.: Роспотребнадзор, 2004. – 24 с.
5. Общая фармакопейная статья «Сроки годности лекарственных средств» ОФС 42-0075-07. Государственная фармакопея Российской Федерации XII. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – С. 488-493.
6. Санитарно-эпидемиологические правила «Надлежащая практика производства медицинских иммунобиологических препаратов» СП 3.3.2.1288-03. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 56 с.
7. Технические условия № 9388-001-01897080-2007. Диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации, суспензия для диагностических целей. – М.: ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора, 2007. – 11 с.

**Рецензенты:**

Таран Т.В., д.м.н., старший научный сотрудник, заведующая лабораторией питательных сред для культивирования микроорганизмов I–IV групп патогенности ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь.

Будыка Д.А., д.м.н., старший научный сотрудник, заведующий научно-производственной лабораторией чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь.