

Оптимизация процесса концентрирования микробных клеток в технологии чумных вакцин

Д. А. Шаров, А. А. Лещенко*, С. В. Багин, Д. А. Мохов, С. В. Логвинов, В. В. Крупин, А. В. Ежов, А. Г. Лазыкин, В. В. Бирюков

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

На сегодняшний день в технологии вакцины чумной живой используется комбинированный способ концентрирования микробных клеток, состоящий из трех операций суммарной продолжительностью 18 ч. К недостаткам получения концентрата в рамках существующей технологии вакцины относятся ее многооперационность, энергозатратность, продолжительность и, как следствие, малый выход концентрированной суспензии (0,04 л с 1 л нативной культуры). **Цель работы** состояла в оптимизации процесса концентрирования микробных клеток *Yersinia pestis* EV с применением установки тангенциальной микрофльтрации с фильтродержателем АСФ-020. **Материалы и методы:** в исследованиях использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ (Научно-исследовательский институт эпидемиологии и гигиены). Для глубинного выращивания нативной культуры применяли реактор БИОР-0,25. Содержание живых микробных клеток определяли циторефрактометрическим методом. Оценку параметров окислительного метаболизма осуществляли с использованием хроноамперометрического метода. Физико-химические и иммунобиологические свойства вакцины чумной живой сухой определяли в соответствии с ФС.3.3.1.0022.15 Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания. **Результаты:** конструктивные особенности внедряемого оборудования позволили осуществлять мембранную фильтрацию микробной суспензии, используя в качестве емкости промежуточного хранения реактор БИОР-0,25, тем самым исключив три технологические операции. Общая концентрация микробов в суспензии, полученной регламентным и оптимизированным способами, составляла не менее 120 млрд м.кл./мл. Сравнительное изучение влияния различных гидродинамических режимов в рабочих полостях фильтрующих установок АСФ-009 и АСФ-020 существенно не повлияло на морфометрические и физиологические свойства микробных культур. На основании экспериментальных данных составлен материальный баланс процесса мембранной фильтрации. Выход концентрата с 1 л нативной культуры по оптимизированной технологии достигал 0,17 л, продолжительность процесса сократилась до 4 ч. **Выводы:** оптимизирован процесс концентрирования микробных клеток *Y. pestis* EV в технологическом процессе производства чумных вакцин. Сравнительное изучение морфометрических и физиологических свойств культур чумного микроба в процессе их концентрирования по оптимизированной технологии не выявило существенных отличий по сравнению с регламентной.

Ключевые слова: вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV; вакцина чумная живая; технология вакцины чумной живой; показатели окислительного метаболизма; концентрирование микробной суспензии; материальный баланс; микрофльтрация

Для цитирования: Шаров ДА, Лещенко АА, Багин СВ, Мохов ДА, Логвинов СВ, Крупин ВВ, Ежов АВ, Лазыкин АГ, Бирюков ВВ. Оптимизация процесса концентрирования микробных клеток в технологии чумных вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(1):50–55. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55>

***Контактное лицо:** Лещенко Андрей Анатольевич; NIC48CNII@mail.ru

Optimisation of the Microbial Cell Concentration Procedure in Plague Vaccine Production

D. A. Sharov, A. A. Leshchenko*, S. V. Bagin, D. A. Mokhov, S. V. Logvinov, V. V. Krupin, A. V. Ezhov, A. G. Lazykin, V. V. Biryukov

48 Central Scientific Research Institute (Kirov),
Oktyabrsky Avenue 119, Kirov 610000, Russian Federation

To date, the technology of live plague vaccine production uses a combined method of concentrating microbial cells which consists of three operations with a total duration of 18 hours. The procedure of obtaining concentrate, which is used in the current vaccine production technology, has a number of disadvantages, namely: multiple operations, high energy consumption, long duration, and, as a consequence, low yield of concentrated suspension (0.04 l from 1 l of native culture). **The aim of the study** was to optimise the procedure of *Yersinia pestis* EV microbial cell concentration using the system for tangential flow microfiltration with the ASF-020 filter support unit.

Materials and methods: the vaccine strain used in the study was *Yersinia pestis* EV derived from NIIEG cell line (the strain of the Research Institute of Epidemiology and Hygiene). Submerged cultivation of the native culture was performed using the BIOR-0.25 reactor. The content of live microbial cells was determined by cytofluorimetry. Oxidative metabolism was assessed using the chronoamperometric method. Physico-chemical and immunobiological properties of the dry live plague vaccine were assessed according to the monograph FS.3.3.1.0022.15 of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14 edition. **Results:** the equipment's design features made it possible to carry out membrane filtration of the microbial suspension using the BIOR-0.25 reactor as an intermediate storage unit, thereby excluding three technological stages. The total concentration of microbes in the suspension obtained by the routine and the optimised methods was not less than 120 billion microbial cells/ml. A comparative study of the effect of various hydrodynamic regimes in the working cavities of ASF-009 and ASF-020 filter units did not significantly affect the morphometric and physiological properties of microbial cultures. Experimental data helped to determine the process mass balance of membrane filtration. The optimised technology gave 0.17 l yield of the concentrate from 1 l of native culture, and the process duration was reduced to 4 hours. **Conclusions:** the process of concentrating *Y. pestis* EV microbial cells during production of plague vaccines was optimised. A comparative study of morphometric and physiological properties of plague microbe cultures that was carried out during their concentration using the optimised technology did not reveal any significant differences as compared to the routine one.

Key words: *Yersinia pestis* EV vaccine strain; live plague vaccine; live plague vaccine production technology; oxidative metabolism parameters; concentration of microbial suspension; mass; microfiltration

For citation: Sharov DA, Leshchenko AA, Bagin SV, Mokhov DA, Logvinov SV, Krupin VV, Ezhov AV, Lasykin AG, Biryukov VV. Optimisation of the microbial cell concentration procedure in plague vaccine production. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(1):50–55. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55>

Corresponding author: Andrey A. Leshchenko; NIC48CNII@mail.ru

Одной из важнейших задач производства живых вакцин является совершенствование технологической стадии концентрирования микробных культур, при этом предпочтение отдается отечественному оборудованию и сохранению или улучшению качественных характеристик готового иммунологического лекарственного препарата. Решение данной задачи требует своевременного аппаратного переоснащения, использования высокоэффективных технологических методов и современных конструкционных материалов [1, 2].

На сегодняшний день в технологии вакцины чумной живой используется комбинированный способ концентрирования микробных клеток, состоящий из трех операций — этапов. Он предусматривает первичное осаждение микробной взвеси вакцинного штамма, накопление осадка в емкости промежуточного хранения (40 л) и последующую микрофильтрацию на установке АСФ-009 [3].

К недостаткам получения концентрата в рамках существующей технологии вакцины относятся ее многооперационность, энергозатратность и продолжительность (18 ч). Следствием такого комбинированного способа является малый выход концентрированной суспензии (0,04 л с 1 л нативной культуры) [4]. Такая технология не может называться современной, поскольку не обеспечивает увеличение выхода продукта с единицы объема полуфабриката при минимальных энергетических и временных затратах¹ [5].

Все это определяет актуальность исследований, направленных на оптимизацию регламентного способа получения концентрата микробных клеток в технологии чумных вакцин за счет использования более производительного оборудования.

Цель работы — оптимизация процесса концентрирования микробных клеток *Yersinia pestis* EV с применением установки тангенциальной микрофильтрации с фильтродержателем АСФ-020 в технологии чумных вакцин.

Материалы и методы

В производстве препарата использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV, полученный из Государственной кол-

лекции возбудителей бактериальных инфекций, используемых для разработки и оценки эффективности медицинских средств ПБЗ, филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России (г. Киров) (далее — штамм EV).

Для глубинного выращивания нативной культуры чумного микроба штамма EV применяли реактор БИОР-0,25 (ОАО «Опытно-конструкторское бюро тонкого биологического машиностроения», г. Кириши, Россия). Режимы глубинного культивирования: продолжительность выращивания микробной взвеси — 27 ч; скорость вращения вала перемешивающего устройства — 300 оборотов/мин; объем воздуха, подаваемого для аэрации, удельный расход воздуха на 1 л культуральной жидкости — $(0,20 \pm 0,02)$ л/мин; температура выращивания — (27 ± 2) °С.

Концентрат микробной взвеси, согласно регламенту, получали комбинированным способом в том же реакторе, емкости промежуточного хранения и установке тангенциальной микрофильтрации с фильтродержателем АСФ-009 (далее — установка АСФ-009) (ЗАО «Владисарт», Россия).

Оптимизацию существующей технологии проводили при помощи установки тангенциальной микрофильтрации с фильтродержателем АСФ-020 (далее — установка АСФ-020) (ЗАО «Владисарт», Россия).

Содержание живых микробных клеток определяли циторефрактометрическим методом на микроскопе МБИ-6 с аноптральным контрастом и общим увеличением $\times 1350$. Микробную суспензию готовили путем ее разведения 0,15 М фосфатным буфером на основе одно- и двузамещенных фосфатов калия с pH от 6,9 до 7,0 с добавлением 1,0 % глюкозы и 0,1 % глицерина, а для приготовления препарата использовали желатиновый гель, содержащий 3 % глицерина. Содержание делящихся клеток оценивали в фазовом контрасте на микроскопе «Люмам ИЗ». Документирование и анализ размеров микробных клеток осуществляли на микроскопе «Биомед-4ПР» с цифровой камерой Digital Camera DSM-900 и программным обеспечением «Видео Тест-Морфология 5.2» [3].

¹ ГОСТ Р 52249-2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств.

Приказ Минпромторга России от 14.06.2013 № 916 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики».

Таблица 1. Характеристика морфометрических показателей клеток чумного микроба штамма EV до и после концентрирования ($X \pm I_{95}, n = 5$)

Table 1. Morphometric parameters of plague microbe cells, EV strain, before and after concentration ($X \pm I_{95}, n = 5$)

Исследуемая культура	Содержание клеток..., %		Линейные размеры клеток, мкм		
	живых	делящихся	длина	диаметр	
Микробная культура, выращенная в реакторе БИОР-0,25	94,8 ± 1,7	7,0 ± 3,9	1,81 ± 0,09	0,75 ± 0,04	
Микробная суспензия, полученная по технологии...	оптимизированной	90,5 ± 4,5	4,2 ± 2,6	1,75 ± 0,10	0,68 ± 0,03
	регламентной	83,1 ± 3,3	4,3 ± 2,2	1,78 ± 0,12	0,73 ± 0,04

В сравнительной оценке параметров окислительного метаболизма чумного микроба штамма EV в процессе получения концентрированной микробной суспензии различными способами использовали хроноамперометрический метод измерения скорости дыхания и методику регистрации дыхания бактерий [6].

Физико-химические и иммунобиологические свойства вакцины чумной живой сухой определяли в соответствии с ФС.3.3.1.0022.15 Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, кожного скарификационного нанесения и ингаляций².

Материальный баланс стадии приготовления концентрированной микробной суспензии до и после оптимизации определяли в соответствии с требованиями ОСТ 64-02-003-2002³. Расчет проводили согласно методике, представленной в практике по технологии лекарственных форм [7].

При статистической обработке экспериментальных результатов использовали метод регрессивного анализа. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента⁴. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Процесс концентрирования глубинной культуры вакцинного штамма EV чумного микроба согласно промышленному регламенту включает следующие технологические операции:

- предварительное осаждение в биореакторе БИОР-0,25 продолжительностью 6 ч;
- отбор накопленного осадка и седиментацию в емкости промежуточного хранения в течение 8 ч при температуре от 4 до 8 °С;
- концентрирование осадка микробной взвеси на протяжении 4 ч способом микрофильтрации на установке АСФ-009.

Последняя оснащалась пятью мембранными модулями из полипропилена с размером пор 0,2 мкм и площадью поверхности фильтрации 0,1 м² каждый. Разделение проводили в температурном интервале от 18 до 20 °С, при этом общая концентрация чумных микробов штамма EV в суспензии, определенная по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей 10 международных единиц (МЕ), эквивалентной 0,95·10⁹ м.кл./мл чумного микроба, составляла 120 млрд м.кл./мл.

Оптимизация процесса концентрирования заключалась во внедрении в производство вакцины установки АСФ-020. Ее конструктивные особенности позволили осуществлять мембранную фильтрацию, используя в качестве емкости промежуточного хранения реактор БИОР-0,25. Для микрофильтрации с применением установки АСФ-020 были выбраны 7 мембран-

ных модулей из полиэфирсульфона с размером пор 0,2 мкм. Общая площадь фильтрующей поверхности составляла 4,9 м². Процесс продолжался не более 4 ч при температуре от 15 до 18 °С. Общая концентрация микробов в суспензии составляла не менее 120 млрд м.кл./мл.

Движущей силой при тангенциальной фильтрации микробной суспензии в мембранной технике является перепад давлений, который создается насосными агрегатами. Так, на установке АСФ-009 используется перистальтический насос, а установка АСФ-020 оснащена высокопроизводительным герметичным центробежным насосом. Различие в конструкциях насосных устройств изменяет режимы течения микробной суспензии в рабочих полостях фильтрующих установок от ламинарного до турбулентного. Следует также учитывать, что гидродинамические характеристики мембранного оборудования способны оказывать как физическое, так и механическое воздействие на микробные клетки и влиять на их жизнеспособность в процессе переработки.

В этой связи дальнейшие исследования целесообразно было направить на сравнительное изучение влияния конструктивных особенностей мембранных установок на показатели, характеризующие качество полуфабрикатов и готовых препаратов. В микробных культурах оценивали содержание клеток (живых и делящихся) и анализировали параметры их линейных размеров. Для определения морфологических показателей чумного микроба штамма EV использовали микроскопические методы исследований [3, 8]. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Данные, представленные в таблице 1, показывают, что содержание живых и делящихся микробных клеток при глубинном культивировании несколько выше, чем в микробном концентрате. Этот факт объясняется дефицитом питательного субстрата, возникшим в результате концентрирования клеток способом микрофильтрации [3, 8]. Содержание живых клеток в микробных суспензиях оставалось достаточно высоким и практически не зависело от метода концентрирования. Линейные размеры микробных клеток также оказались несколько большими в нативной культуре, но достоверно не отличались от размеров клеток в концентрированных микробных суспензиях. Такое уменьшение геометрических параметров клеток чумного микроба объясняется отсутствием питательных веществ в суспензии, а также применением микрофильтрационного механизма регуляции размеров, что можно назвать адаптацией микробной популяции к изменившимся условиям⁵.

Важным является исследование физиологического состояния бактериальных культур, поскольку это позволяет получать более полные данные об изменении состояния клеток под

² Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

³ ОСТ 64-02-003-2002. Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения.

⁴ Лакин Г.Ф. Биометрия. Учебное пособие. М.: Высшая школа; 1990.

⁵ Фихман БА. Микробиологическая рефрактометрия. М.: Медицина; 1967.

Таблица 2. Результаты сравнительной оценки показателей окислительного метаболизма чумного микроба штамма EV
Table 2. The results of comparison of oxidative metabolism parameters of the plague microbe, EV strain

Исследуемый показатель	Глубинная культура, выращенная в аппарате	Микробная суспензия, полученная по технологии...	
		оптимизированной	регламентной
Удельная скорость эндогенного дыхания, нМО ₂ (млрд·мин) ⁻¹	14,81	14,21	14,14
Коэффициент стимуляции дыхания глюкозой 0,0025 М, отн. ед.	1,00	1,00	1,00
Коэффициент стимуляции дыхания глюкозой 0,1 М, отн. ед.	1,00	1,00	1,00
Коэффициент стимуляции дыхания 2,4-динитрофенолом, отн. ед.	1,21	1,21	1,20

Примечание. В таблице представлены данные средней величины трех измерений.

Таблица 3. Характеристика основных показателей качества образцов вакцины чумной живой сухой
Table 3. Data on the main quality parameters of dry live plague vaccine samples

Наименование показателя качества, единица измерения	Требования нормативной документации	Результаты оценки вакцины, полученной по технологии...			
		регламентной		оптимизированной	
		на момент приготовления	по истечении срока годности (3 года)	на момент приготовления	по истечении срока годности (3 года)
Концентрация микробных клеток, млрд м.кл./мл	От 50 до 100	80	70	90	80
Концентрация живых микробных клеток, % от общей концентрации микробных клеток	25, не менее	29,2	25,5	34,6	30,7
Иммуногенность	Вакцина должна быть иммуногенной	Вакцина иммуногенна			
Потеря в массе при высушивании, %	4,0, не более	3,5	3,5	3,4	3,4
Термостабильность, сут	4,0, не менее	6,4	6,1	7,7	7,3
Концентрация микробных клеток, млрд м.кл./мл	От 50 до 100	80	70	90	80
Концентрация живых микробных клеток, % от общей концентрации микробных клеток	25, не менее	29,2	25,5	34,6	30,7
Иммуногенность	Вакцина должна быть иммуногенной	Вакцина иммуногенна			
Потеря в массе при высушивании, %	4,0, не более	3,5	3,5	3,4	3,4
Термостабильность, сут	4,0, не менее	6,4	6,1	7,7	7,3

Примечание. В таблице представлены данные средней величины трех измерений.

воздействием стрессовых факторов на последующих этапах технологии вакцины чумной живой.

Для изучения метаболической активности клеток и физиологического состояния культур чумного микроба использовали хроноамперометрический метод измерения скорости дыхания и методику регистрации дыхания бактерий, позволяющие провести сравнительную оценку параметров окислительного метаболизма чумного микроба штамма EV в процессе получения концентрированной микробной суспензии [6]. Результаты эксперимента представлены в таблице 2.

Анализ данных, представленных в таблице 2, показывает, что уровни окислительного метаболизма бактерий в составе нативных культур и концентрированных суспензий не имеют существенных различий.

На последнем этапе экспериментальной работы нами были приготовлены образцы лиофилизированной вакцины чумной

живой и проведена сравнительная оценка показателей качества препаратов на соответствие требованиям нормативной документации⁶. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Из данных, представленных в таблице 3, следует, что лиофилизированная вакцина чумная живая, произведенная по оптимизированной технологии (на установке АСФ-020), отвечает требованиям нормативной документации и сохраняет свои свойства по истечении срока годности (3 года). В равной степени отвечает всем характеристикам качества вакцина, приготовленная по регламенту. Однако препарат, полученный по оптимизированной технологии, имеет более высокие показатели по содержанию живых микробов и термостабильности.

К одной из наиболее значимых характеристик любого производства, позволяющей оценить эффективность технологии

⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

Таблица 4. Результаты сравнительной оценки материального баланса на этапе приготовления концентрированной микробной суспензии в технологии чумной вакцины с использованием различных методов концентрирования

Table 4. The results of comparative assessment of the mass balance at the stage of preparation of a concentrated microbial suspension during plague vaccine production using various methods of concentration

Наименование технологии концентрирования, продолжительность	Нативная культура				Концентрированная микробная суспензия				Фильтрат				Потери микробной культуры		Суммарные потери на стадии, %	Выход полуфабриката на стадии, %
	Объем, л	Концентрация клеток, м.кл./мл	Общее количество клеток	Исходное содержание клеток, %	Объем, л	Концентрация клеток, м.кл./мл	Общее количество клеток	Содержание клеток от исходного, %	Объем, л	Концентрация клеток, м.кл./мл	Общее количество клеток	Содержание клеток от исходного, %	В коммуникациях, %	Проба на лабораторный контроль, %		
Регламентный, 18 ч	175,0	25,0·10 ⁹	437,5·10 ¹³	100	10,0	12,0·10 ¹⁰	120,0·10 ¹³	27,4	165,0	17,6·10 ⁹	291,2·10 ¹²	66,6	3,6	2,4	72,6	27,4
Оптимизированный, 4 ч					30,0	12,0·10 ¹⁰	360,0·10 ¹³	82,3	145,0	-	-	-	15,3	2,4	17,7	82,3

Примечание. «-» — микробные клетки отсутствуют.

как в целом, так и по отдельным стадиям, является материальным балансом.

Результаты сравнительной оценки материального баланса на этапе приготовления концентрированной микробной суспензии в технологии чумной вакцины с использованием различных технологий представлены в таблице 4. Из расчетно-экспериментальных данных (табл. 4) следует, что объем концентрата чумного микроба штамма EV достигал величины 0,17 л с 1 л нативной культуры по оптимизированной технологии и в 3 раза превышал объем микробной суспензии, полученной согласно регламенту, а продолжительность процесса сократилась до 4 ч.

Таким образом, в ходе проведенных исследований оптимизирован процесс концентрирования микробных клеток в технологическом процессе производства чумных вакцин. Сравнительное изучение морфометрических и физиологических свойств культур чумного микроба *Y. pestis* EV в процессе их концентрирования по оптимизированной и регламентной технологиям не выявило существенных отличий. Показано, что вакцинные препараты, приготовленные из концентратов микробных клеток, полученных на установке микрофилтрации АСФ-020, удовлетворяют требованиям нормативной документации и сохраняют свои свойства по истечении срока годности⁷. При этом они имели более высокие показатели по содержанию живых микробов и термостабильности. Оптимизация процесса концентрирования позволила увеличить выход микробной взвеси с единицы объема нативной культуры чумного микроба на 33,3 % и сократить продолжительность технологической стадии в 4,5 раза.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания филиалу Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (Киров) № 707 ОК/2013/ДРГЗ от 27.09.2013 г. на проведение опытно-конструкторской работы «Создание автоматизированной информационной системы контроля производства медицинских иммунобиологических препаратов», шифр «Выпь-1».

Acknowledgements. The study was carried out by the local office of the Federal State Budgetary Institution «48 Central Scientific Research Institute» of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Kirov) as part of the publicly funded experimental engineering project No. 707 ОК/2013/DRGZ initiated on 27.09.2013 «Creation of an automated information system for monitoring the production of medicinal immunobiological products», project code «Vyp-1».

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

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Микшис НИ, Кудрявцева ОМ, Кутырев ВВ. Современные тенденции в конструировании рекомбинантных вакцин для специфической профилактики чумы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2015;(3):116–26. [Mikshis NI, Kudryavtseva OM, Kutyrev VV. Contemporary tendencies in constructing recombinant vaccines for specific prophylaxis of plague. *Zhurnal mikrobiologii, ehpidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 2015;(3):116–26 (In Russ.)]
2. Бирюков ВВ. *Основы промышленной биотехнологии*. М.: КолосС Химия; 2004. [Biryukov VV. *Fundamentals of Industrial Biotechnology*. М.: KolosS Khimiya; 2004 (In Russ.)]
3. Ежов АВ, Садовой ИН, Бирюков ВВ, Мохов ДА, Багин СВ, Чернышев АВ и др. Возможность использования метода микрофилтрации в технологии вакцины чумной живой сухой. *Материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 80-летию со дня основания ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России»*. Киров: ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России», 2008. Вып. 1. С. 313–6. [Ezhov AV, Sadovoy IN, Biryukov VV, Mokhov DA, Bagin SV, Chernyadyev AV, et al. The possibility of using the microfiltration method in the plague live dry vaccine technology. *Proceedings of the All-Russian scientific conference devoted to the 80th anniversary of the founding of the Federal State Research Institute of the 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of*

⁷ Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

- Russia. Kirov: FSI «48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia», 2008. Issue 1. P. 313–6 (In Russ.)]
- Тетерин ВВ, Ежов АВ, Бирюков ВВ, Мохов ДА, Багин СВ, Хонин АЗ, Логвинов СВ. Способ получения препарата на основе вакцинного штамма чумного микроба. Патент Российской Федерации № 2510825; 2014. [Teterin VV, Ezhov AV, Biryukov VV, Mokhov DA, Bagin SV, Khonin AZ, Logviov SV. Method of obtaining preparation based on vaccine strain of plague microbe. Patent of the Russian Federation No. 2510825; 2014 (In Russ.)]
 - Загоскина НВ, Назаренко ЛВ, Калашникова ЕА, Живухина ЕА. Биотехнология: теория и практика. М.: Оникс; 2009. [Zagoskina NV, Nazarenko LV, Kalashnikova EA, Zhivukhina EA. *Biotechnology: theory and practice*. Moscow: Онух; 2009 (In Russ.)]
 - Мартынов НВ, Чеботарев ЕВ, Лебединский ВА, Чичерин ЮВ, Додонов НП, Нестеренко АА. Полярографический метод в оценке культуральных свойств вакцинного штамма EB. *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии*. 1990;(12):18–21. [Martynov NV, Chebotarev YeV, Lebedinskiy VA, Chicherin YuV, Dodonov NP, Nesterenko AA. Polarographic method in assessing the cultural properties of the vaccine strain EB. *Zhurnal mikrobiologii, ehpidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology*. 1990;(12):18–21 (In Russ.)]
 - Краснюк ИИ, Михайлова ГВ, ред. *Практикум по технологии лекарственных форм*. М.: Академия; 2007. [Krasnyuk II, Mikhaylova GV., *Practice on the technology of medicinal forms*. M.: Academy; 2007 (In Russ.)]
 - Лещенко АА, Тетерин ВВ, Лазыкин АГ, Ежов АВ, Мохов ДА, Бирюков ВВ и др. Экспериментальное обоснование возможности получения концентрата микробных клеток штамма *Yersinia pestis* EV методом микрофилтрации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2014;(1):31–5. [Leshchenko AA, Teterin VV, Lazykin AG, Ezhov AV, Mokhov DA, Biryukov VV, et al. Experimental justification of the possibility of obtaining microbial *Yersinia pestis* EV strain concentrate by microfiltration. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2014;(1):31–5 (In Russ.)]

Об авторах

Шаров Дмитрий Александрович, канд. техн. наук, начальник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Лещенко Андрей Анатольевич, д-р техн. наук, профессор, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Багин Сергей Валерьевич, канд. техн. наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Мохов Дмитрий Александрович, канд. биол. наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Логвинов Сергей Владимирович, канд. биол. наук, научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Крупин Владимир Викторович, канд. биол. наук, заместитель начальника научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Ежов Андрей Владимирович, д-р мед. наук, старший научный сотрудник, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Лазыкин Алексей Геннадьевич, канд. биол. наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Бирюков Василий Васильевич, канд. техн. наук, начальник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров)

Authors

Dmitry A. Sharov, Candidate of Technical Sciences, Head of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Andrey A. Leshchenko, Doctor of Technical Sciences, Professor, Leading Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Sergey V. Bagin, Candidate of Technical Sciences, Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Dmitry A. Mokhov, Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Sergey V. Logvinov, Candidate of Biological Sciences, Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Vladimir V. Krupin, Candidate of Biological Sciences, Deputy Head of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Andrey V. Ezhov, Doctor of Medical Sciences, Senior Research Associate, Senior Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Aleksey G. Lazykin, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Vasily V. Biryukov, Candidate of Technical Sciences, Head of the Research Department of the Branch Office of the 48 Central Scientific Research Institute (Kirov)

Поступила 06.12.2018
После доработки 29.01.2019
Принята к публикации 14.02.2019

Received 6 December 2018
Revised 29 January 2019
Accepted 14 February 2019