

СТАТЬЯ

УДК 615.371

**К ВОПРОСУ ОПТИМИЗАЦИИ ЦЕХА
ПО ПРОИЗВОДСТВУ РЕКОМБИНАНТНЫХ
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ (ВАКЦИН)**¹Литвинов М.А., ²Богданова О.Ю., ²Черных Т.Ф.

¹ФГУП «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток»
Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации, Санкт-Петербург,
e-mail: litvinov.maksim@pharminnotech.com;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург,
e-mail: bogdiolg@yandex.ru, tatyana.chernych@pharminnotech.com

Вакцинация является эффективным методом профилактики инфекционных рисков и защиты общества. Рекombинантные технологии являются перспективным направлением развития вакцинологии, позволяющим создавать биопрепараты, которые могут быть более эффективными, безопасными и дешевыми. Рекombинантные технологии позволяют создавать иммунобиологические вакцинные препараты, которые имеют высокую степень чистоты, поскольку используемые в технологическом процессе клетки содержат только необходимый генетический материал. Производство рекombинантных биопрепаратов (вакцин) может быть очень эффективным и экономически выгодным. При этом организация производства может иметь некоторые недостатки, которые вскрываются после начала работы и нуждаются в исправлении. Исследование посвящено изучению цеха отечественного производства, производящего рекombинантные иммунобиологические препараты. Таким образом, в результате исследования было показано, что цех по производству рекombинантных вакцин включает современное оборудование и способен эффективно масштабировать любой типовой проект, основанный на получении рекombинантного белка. По результатам исследования производственного цеха и технологии изготовления рекombинантных вакцин выявлены определенные недостатки, которые могут быть устранены путем применения разработанных рекомендаций к усовершенствованию. Предложены необходимые улучшения биореактора, показаны пути повышения эффективности технологии, выделены пути улучшения организации производства.

Ключевые слова: рекombинантные технологии, вакцина, цех по производству вакцины, биореактор, рекombинантный белок

**ON THE ISSUE OF OPTIMIZING THE WORKSHOP
FOR THE PRODUCTION OF RECOMBINANT
IMMUNOBIOLOGICAL DRUGS (VACCINES)**¹Litvinov M.A., ²Bogdanova O.Yu., ²Chernykh T.F.

¹Saint Petersburg Research Institute of Vaccines and Serums, Saint Petersburg,
e-mail: litvinov.maksim@pharminnotech.com;

²Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint Petersburg,
e-mail: bogdiolg@yandex.ru, tatyana.chernych@pharminnotech.com

Vaccination is an effective method of preventing infectious risks and protecting society. Recombinant technologies are a promising direction in the development of vaccinology, allowing the creation of biological products that can be more effective, safe and cheap. Recombinant technologies make it possible to create immunobiological vaccine preparations that have a high degree of purity, since the cells used in the technological process contain only the necessary genetic material. The production of recombinant biologics (vaccines) can be very efficient and cost-effective. At the same time, the organization of production may have some shortcomings that are revealed after the start of work and need to be corrected. The study is devoted to the study of a workshop of domestic production producing recombinant immunobiological drugs. Thus, as a result of the study, it was shown that the workshop for the production of recombinant vaccines includes modern equipment, and is able to effectively scale any typical project based on the production of recombinant protein. According to the results of the study of the production shop and the technology of manufacturing recombinant vaccines, certain shortcomings have been identified that can be eliminated by applying the recommendations developed in the work for improvement. The necessary improvements of the bioreactor are proposed, ways to increase the efficiency of the technology are shown, ways to improve the organization of production are highlighted.

Keywords: recombinant technologies, vaccine, vaccine production workshop, bioreactor, recombinant protein

В настоящее время одним из перспективных направлений развития иммунобиотехнологии является применение рекombинантных технологий, которые позволяют создавать биопрепараты, способные быть

более эффективными, безопасными и дешевыми, для специфической профилактики населения от инфекционных заболеваний. Рекombинантные технологии позволяют создавать биопрепараты, которые имеют

высокую степень чистоты, поскольку используемые в процессе клетки содержат только необходимый генетический материал [1]. Производство рекомбинантных иммунобиологических препаратов может быть очень эффективным и экономически выгодным. Клетки с нужными генами могут быть выращены в больших количествах, что позволяет получить большие объемы продукта за короткое время. Использование рекомбинантных технологий может уменьшить риск возникновения нежелательных эффектов, связанных с производством биопрепаратов, тем самым привести к увеличению безопасности. Благодаря возможности точного контроля над производством биопрепаратов, рекомбинантные технологии позволяют получать продукты с более точной калибровкой дозировки. Одним из преимуществ рекомбинантных вакцин является возможность создания индивидуальных биологических препаратов. Рекомбинантные технологии позволяют создавать биопрепараты, специально нацеленные на индивидуальные потребности конкретного пациента, что позволяет повысить эффективность лечения, снизить риск нежелательных побочных эффектов.

Исследование посвящено изучению цеха, производящего рекомбинантные иммунобиологические препараты. Проведенное исследование может быть полезно для улучшения и оптимизации работы производственного подразделения, повышения производительности участка.

Актуальность исследования обусловлена необходимостью повышения эффективности и безопасности производства рекомбинантных препаратов, которые имеют важное значение для лечения различных заболеваний. Исследование может также привести к оптимизации процессов производства и снижению затрат на производство, что имеет большое значение для фармацевтической промышленности и общества в целом.

В фармацевтической и биотехнологической промышленности обустройство, оснащение, расположение оборудования и состояние помещений приобретает критическое значение из-за характера производимой продукции. Внешняя и внутренняя среда производства должны способствовать поддержанию качества и безопасности лекарственных препаратов, поэтому расположение, дизайн, конструкция и планировка помещений являются жизненно важной частью правил GMP (Good Manufacturing Practices) – надлежащей производственной практики [2].

С точки зрения GMP наиболее важным фактором являются климатические усло-

вия и уровень гигиены в окружающей среде. Фармацевтические помещения в идеале должны располагаться вдали от загрязняющих производств, поскольку в ином случае имеется риск перегрузки систем обработки воздуха и воды [2].

Используемое здание должно быть спроектировано, построено и должно обслуживаться таким образом, чтобы обеспечить производство лекарств в гигиенических условиях. Планировка помещений должна быть такой, чтобы снизить риск ошибок, а также избежать скопления грязи и перекрестной контаминации, которые могут повлиять на качество лекарственного препарата. Конструкция и планировка здания должны обеспечивать последовательную и логическую последовательность производственного процесса и движения персонала и материалов [2].

Здание должно быть обеспечено достаточным освещением, водой, электроснабжением и вентиляцией, а также должно быть оборудовано системами для поддержания температуры и влажности в различных помещениях на желаемом уровне. Должны быть предусмотрены меры по защите от проникновения вредителей, насекомых, грызунов и т.д. [2]. Арматура, воздуховоды, трубы и вентиляционные отверстия должны быть спроектированы таким образом, чтобы в них не образовывались труднодоступные для очистки углубления. Такие точки должны быть расположены так, чтобы они были легко доступны для проведения работ по техническому обслуживанию без необходимости входа в производственные помещения [2].

Во все зоны должен поступать отфильтрованный воздух – скорость фильтрации и воздухообмена должна быть рассчитана на достижение желаемой классификации чистой зоны. Нормой является скорость воздухообмена от 6 до 20 воздухообменов в час.

Системы водоснабжения должны быть установлены для обеспечения водой качества, соответствующего требованиям лекарственного препарата. Резервуары для хранения воды должны быть спроектированы так, чтобы поддерживать качество воды и предотвращать рост микробов [2].

Все помещения внутри здания должны регулярно убираться, должны вестись записи об уборке. Отходы с производства должны утилизироваться в соответствии с правилами Совета по контролю за загрязнением окружающей среды. Уборные, туалеты и помещения для буфета должны располагаться вдали от производственных помещений. Они не должны иметь прямого сообщения с зонами, где производятся, тестируются или хранятся материалы [2].

Стерильные зоны необходимо часто очищать и дезинфицировать в соответствии с утвержденным протоколом очистки. Для обеспечения эффективного бактерицидного действия необходимо использовать более одного типа дезинфицирующих средств. Необходимо проводить регулярный мониторинг чистых помещений для выявления присутствия контаминирующих микроорганизмов. Процедуры очистки должны быть утверждены, чтобы убедиться, что остатки дезинфицирующего средства обнаруживаются и удаляются во время очистки [2].

Температура и относительная влажность помещений должны контролироваться, чтобы обеспечить соответствие помещения требованиям к материалам и продуктам, а также нормативным требованиям. По возможности следует также уделить внимание комфорту оператора. Должны быть построены шлюзы для отделения зон с низкой влажностью от зон с более высокой влажностью; это предотвращает миграцию влаги, которая в противном случае могла бы перегрузить систему воздухоподготовки – HVAC [2].

Гигиена персонала является обязательной, сотрудники должны быть обучены соблюдать предписанный дресс-код, процедуры входа и выхода в чистые помещения и процедуры одевания [2].

Чистые помещения относятся к контролируемой среде, в которой уровень загрязнения поддерживается на очень низком уровне, чтобы соответствовать требованиям, указанным в отношении количества частиц в кубическом метре воздуха. Для достижения этих показателей контролируемой среды воздух поступает в чистое помещение через высокоэффективные фильтры для твердых частиц – HEPA (High Efficiency Particulate Absorption), которые удаляют частицы размером более или равные 0,3 мк [2; 3].

Цель исследования – оптимизация процессов производства, формирование практических рекомендаций, применимых для производственной площадки производственного цеха рекомбинантных вакцинных препаратов.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлся производственный цех рекомбинантных препаратов (РП) ФГУП «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток» и предприятие по производству бактериальных препаратов федерального медико-биологического агентства России (г. Санкт-Петербург) (СПбНИИВС). В составе цеха РП предусмотрены помещения для персонала, помещения для хранения

сырья, материалов и промежуточных продуктов, комплекс помещений с материальным и персональным шлюзами, помещение банка микробных культур, помещения культивирования, выделения белка, помещения хроматографической очистки и сведения антигенов.

Основными методами исследования в работе были метод анализа производства, основанный на наблюдении, описании и поиске недостатков и преимуществ, на основании чего в дальнейшем составлены практические рекомендации; метод разработки практических рекомендаций.

Результаты исследования и их обсуждение

Планировка производственных помещений обеспечивает соблюдение поточности движения патогенных биологических агентов (ПБА) – пересечение потоков «незаразного» и «заразного» материала должно быть исключено. «Заразная» и «чистая» зоны имеют отдельные персональные шлюзы и санитарные пропускники для персонала. Сырье и материалы передаются с «чистой» зоны на «заразную» через материальный шлюз D/D₃. Обрато из «заразной» зоны на «чистую» передается для дальнейших технологических операций инактивированный раствор неочищенного белка. «Чистая» зона по отношению к материальному шлюзу D/D₃ имеет избыточное давление 30 Pa. «Заразная» зона по отношению к материальному шлюзу D/D₃ имеет отрицательное давление 10 Pa. Указанный перепад давления препятствует смешиванию воздушных потоков «чистой» и «заразной» зон и проникновению воздуха из «заразной» зоны на «чистую». На «заразной» зоне между коридорами и боксами, в которых проводится технологический процесс, организован каскадный отрицательный перепад давления в 10 Pa. На «чистой» зоне между коридорами и боксами, в которых проводится технологический процесс, организован каскадный избыточный перепад давления в 10 Pa. Между помещениями выделения белка (50) («заразная» зона) и хроматографическим («чистая» зона) организован избыточный перепад давления в 60 Pa.

В цехе предусмотрены следующие системы: отопления, вентиляции, кондиционирования воздуха; водоснабжения (вода водопроводная холодная и горячая); водотведения; холодо- и пароснабжения (вода очищенная, вода для инъекций, чистый пар); технологических газов (сжатый воздух, кислород, азот); электроснабжения 220 и 380 В; система контроля и управления доступом (СКУД); система пожарной

сигнализации; система обнаружения вторжений; компьютерная и телефонная сеть, комплекс переговорных устройств и оповещения персонала.

Все производственные помещения, в которых выполняются работы с ПБА или с материалами, зараженными ПБА, оснащены бактерицидными лампами, приточно-вытяжной вентиляцией, для защиты окружающей среды на выходе воздуха установлены фильтры класса H13.

Все производственные помещения цеха оснащены приточной и вытяжной вентиляцией, укомплектованной фильтрами HEPA. Вентиляция приточно-вытяжная с механическим побуждением. Для «чистой» и «заразной» зон организованы отдельные системы вентиляции. В классифицируемых помещениях система вентиляции укомплектована фильтрами высокоэффективной очистки HEPA класса H13 и H14. Контроль воздуха классифицируемых помещений проводят на содержание механических частиц в соответствии с требованиями ГОСТ Р ИСО 14644-2 – 2001 «Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды», а также в соответствии с нормативами, описанными в методических указаниях МУК 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды», на содержание различных микроорганизмов. Климатические параметры поддерживаются в автоматическом режиме, данные выводятся в диспетчерскую. При критическом отклонении параметров воздуха в помещении автоматически производится корректировка параметров подаваемых воздушных потоков. Потоки материалов и персонала соответствуют требованиям GMP.

Цех обеспечен всеми необходимыми средствами противопожарной безопасности и пожаротушения (огнетушители, пожарные гидранты), имеет необходимое для производственного процесса оборудование, оснащено приборами, лабораторной посудой и инвентарем, аптечками экстренной помощи, средствами индивидуальной защиты. Аптечки «заразной» зоны укомплектованы в соответствии с требованиями, которые указаны в санитарно-эпидемиологических правилах (СП) 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных заболеваний» и п. 271 санитарных правил и норм (СанПиН) 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Существующий «Аварийный уголок» имеет в своем составе аварийную аптечку ПБА, инструкцию по ликвидации аварий ПБА, комплекты защитной одежды

для аварийной бригады и запасные комплекты одежды для переодевания пострадавших, устройство для дезинфекции методом орошения (гидропульс), аварийный запас дезинфицирующего средства.

Цех оснащен современным оборудованием, а именно: хроматографы; биореакторы; автоклавы; спектрофотометры; мобильные реакторы; система тангенциальной фильтрации; гомогенизаторы; множество оборудования для вспомогательных стадий технологического процесса и контроля промежуточных продуктов.

Персонал проходит регулярное обучение, повышение квалификации. Вновь поступающие сотрудники инструктируются, результаты проведения инструктажа фиксируются в специальных журналах.

В цехе организовано управление жидкими и твердыми отходами, которые утилизируются в соответствии с установленными нормативами. Порядок обращения с отходами позволяет сделать заключение о том, что в цехе РП СПбНИИВС отходы утилизируются в соответствии с требованиями GMP.

Для подтверждения эффективности уборки и дезинфекции классифицируемых помещений и помещений для работы с ПБА проводится микробиологический мониторинг воздуха и поверхностей с оформлением протоколов. Анализ протоколов нарушений не выявил.

В результате исследования производственной площадки были выявлены следующие недостатки:

1. Персональные шлюзы не оборудованы приспособлениями для хранения многоцветной одежды для чистых помещений

Решение: снабдить персональные шлюзы (женский, мужской и персональный шлюз общий) вешалками для хранения многоцветной одежды для прохода в чистые помещения.

2. В помещениях для хранения чистой посуды не было свободного места

Решение: в моечных помещениях установить паллеты для хранения чистой посуды.

3. В цехе стояло три полупустых холодильника, занимавших много места

Решение: обозначить новое место хранения термолабильных промежуточных продуктов. Вынести лишние холодильники из помещения «хроматографическая комната» и помещения сведения антигенов, фильтрация промежуточного продукта.

4. При проведении масштабирования возникли затруднения при передаче промежуточного продукта большого объема с зараженной зоны на чистую.

Решение: организовать mouse hole между помещением выделения белка и хрома-

тографической комнатой для обеспечения асептического соединения и передачи обеззараженного материала.

5. При проведении масштабирования процесса культивирования выявлено, что рабочие коэффициенты массопереноса кислорода в пятилитровых реакторах при работе с воздухом составляют 14–70, при работе на 200 л в биореакторе показывают, что данное оборудование не позволяет воспроизвести процесс культивирования [4–6].

Решение: необходимо провести модернизацию воздушной линии для 200 л реактора с целью улучшения получения возможности масштабирования процесса. Для обеспечения сходимости коэффициентов необходимо закупить расходомеры сжатого воздуха на 200 л/мин, что обеспечит $VVM = 1,0$ и покроет потребности в растворенном кислороде.

Заключение

Высокая степень защиты рекомбинантных вакцин в совокупности с низкими рисками побочных эффектов и относительной быстротой создания препарата позволяет использовать различные платформы для создания более современных и безопасных вакцин от любых инфекций. На основании анализа производственного цеха и технологии изготовления рекомбинантных вакцин выявлены определенные недостатки, которые могут быть устранены путем применения разработанных в работе рекомендаций к усовершенствованию. Предложен расчет необходимых улучшений биореактора, показаны пути повышения эффективности технологии, выделены пути улучшения организации производства.

Практические рекомендации по устранению недостатков производства РП:

1. Снабдить персональные шлюзы мешалками для хранения многоразовой одежды для прохода в чистые помещения.

2. В моечных помещениях установить паллеты для хранения чистой посуды.

3. Вынести лишние холодильники из хроматографической комнаты и помещения сведения антигенов.

4. Организовать mouse hole между помещением выделения белка и хроматографической комнатой для обеспечения асептического соединения и передачи обеззараженного материала.

5. Показано, что исследованный в работе цех рекомбинантных иммунобиологических препаратов оборудован современным оборудованием, позволяющим осуществить масштабирование любого типового проекта, основанного на получении рекомбинантного белка, цех пригоден для наработки полисахаридных вакцин.

6. Выявлено, что 200-литровый биореактор не позволяет воспроизвести эффективный процесс культивирования. Отмечено, что необходимо заняться модернизацией воздушной линии для 200 л реактора с целью улучшения получения возможности масштабирования процесса. Для обеспечения сходимости коэффициентов необходимо закупить расходомеры сжатого воздуха на 200 л/мин, что обеспечит $VVM = 1,0$ и покроет потребности в растворенном кислороде.

Список литературы

1. World Health Organization: сайт. 2023. URL: <https://www.who.int/> (дата обращения: 11.03.2024).
2. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 77 (ред. от 04.07.2023) «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза».
3. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии: учебное пособие. М.: КолосС, Химия, 2004. 296 с.
4. Карпова О.О., Матвеева И.Н. Культивирование клеток: сравнительный анализ традиционных и инновационных технологий // Ветеринарный врач. 2022. № 4. С. 14–18.
5. Панкратова Н.А., Табакова Д.А., Гусева Е.В. Исследование процесса культивирования *E. coli* // Успехи в химии и химической технологии: сб. науч. тр. Т. XXXI. № 9. М.: РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2017. С. 31–32.
6. Rosano G.L., Ceccarelli E.A. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges // *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00172.