



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2016133256, 12.08.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
12.08.2016

Дата регистрации:
18.07.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.08.2016

(45) Опубликовано: 18.07.2017 Бюл. № 20

Адрес для переписки:

127473, Москва, 2-й Волконский пер., 10,
Федеральное государственное унитарное
предприятие "Научно-производственное
объединение по медицинским
иммунобиологическим препаратам "Микроген"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации

(72) Автор(ы):

Угарова Наталья Николаевна (RU),
Ломакина Галина Юрьевна (RU),
Модестова Юлия Александровна (RU),
Отрашевская Елена Викторовна (RU),
Винокурова Наталья Владимировна (RU),
Горбачев Вячеслав Юрьевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное унитарное
предприятие "Научно-производственное
объединение по медицинским
иммунобиологическим препаратам
"Микроген" Министерства здравоохранения
Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: CN 101793832 A, 04.08.2010.
JENSEN SE. et al. Development and validation
of an ATP method for rapid estimation of
viable units in lyophilised BCG Danish 1331
vaccine. Biologicals. 2008 Sep; 36(5): 308-14. doi:
10.1016/j.biologicals.2008.05.001. Epub 2008 Jul
9. HO MM. et al. Report of an international
collaborative study to establish the (см. прод.)

(54) СПОСОБ БЫСТРОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ БЦЖ

(57) Формула изобретения

Способ быстрого количественного определения специфической активности
лиофилизированной БЦЖ-вакцины, включающий реконструкцию лиофилизированной
вакцины, удаление внеклеточного АТФ с использованием апиразы, экстракцию
внутриклеточного АТФ, определение содержания внутриклеточного АТФ
биoluminesцентным методом и расчет специфической активности, отличающийся тем,
что реконструкцию лиофилизированной вакцины проводят в физиологическом растворе
в течение 15 минут при комнатной температуре без перемешивания, а затем в течение
60 минут при 37°C при перемешивании, удаление внеклеточного АТФ проводят путем
инкубации реконструированной вакцины в течение 10 минут с апиразой при конечной
концентрации апиразы 0,5-1 ед./мл, экстракцию внутриклеточного АТФ проводят путем
добавления 100%-ного ДМСО до конечной его концентрации не менее 80 об. % и
инкубации полученного экстракта в течение 1 минуты при комнатной температуре,
определение содержания АТФ в полученном экстракте проводят по интенсивности

сигнала биолюминесценции для смеси, включающей экстракт реконструированной БЦЖ-вакцины в ДМСО и раствор АТФ-реагента на основе люциферин-люциферазы при их объемном соотношении 1:5, расчет содержания внутриклеточного АТФ в образце реконструированной вакцины проводят, используя значение сигнала биолюминесценции для АТФ-контроля, представляющего собой лиофилизированный препарат с известным содержанием АТФ, по формуле:

$$(\text{АТФ})_{\text{вакцина}} = (\text{АТФ})_{\text{контроль}} \times (I_{\text{вакцина}}/I_{\text{контроль}}),$$

где $(\text{АТФ})_{\text{вакцина}}$ - содержание АТФ в анализируемом образце БЦЖ-вакцины, пмоль;

$(\text{АТФ})_{\text{контроль}}$ - содержание АТФ в АТФ-контроле, пмоль;

$I_{\text{вакцина}}$ и $I_{\text{контроль}}$ - значения интенсивностей сигналов биолюминесценции для экстракта вакцины и АТФ-контроля в ДМСО,

расчет удельного содержания внутриклеточного АТФ в анализируемом образце $(\text{АТФ}, \text{пмоль/мг})$ проводят с учетом массы лиофилизированной вакцины в анализируемом образце по формуле:

$$(\text{АТФ}), \text{пмоль/мг} = (\text{АТФ})_{\text{вакцина}} / M,$$

где M - масса вакцины,

а расчет специфической активности проводят по формуле:

$$\text{КОЕ} = K \times (\text{АТФ}),$$

где КОЕ - специфическая активность вакцины, млн КОЕ/мг;

(АТФ) - удельное содержание АТФ в вакцине, пмоль/мг;

K - предварительно определенный для данного штамма БЦЖ-вакцины коэффициент пропорциональности между удельным содержанием АТФ и специфической активностью, измеренной методом посевов.

(56) (продолжение):

suitability of using modified ATP assay for viable count of BCG vaccine. *Vaccine*. 2008 Aug 26; 26(36): 4754-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.026. Epub 2008 Jun 27. KOLIBAB K. et al. Characterization of an intracellular ATP assay for evaluating the viability of live attenuated mycobacterial vaccine preparations. *J Microbiol Methods*. 2012 Sep; 90(3): 245-9. doi: 10.1016/j.mimet.2012.05.015. Epub 2012 May 28.