

DOI:10.26104/NNTIK.2023.38.56.016

*Абсатова Ж.С., Садикалиева С.О., Калимолда Э.Ж.,
Молдагулова С.У., Абай Ж.С., Баракбаев К.Б., Шораева К.А.*

**COVID-19ГА КАРШЫ АТА МЕКЕНДИК ИНАКТИВАЦИЯЛАНГАН «QAZCOVID-IN®»
ВАКЦИНАСЫНЫН САПАТЫН КОНТРОЛДОО ПАРАМЕТРЛЕРИ**

*Абсатова Ж.С., Садикалиева С.О., Калимолда Э.Ж.,
Молдагулова С.У., Абай Ж.С., Баракбаев К.Б., Шораева К.А.*

**ПАРАМЕТРЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ
ВАКЦИНЫ «QAZCOVID-IN®» ПРОТИВ COVID-19**

*Zh. Absatova, S. Sadikaliyeva, E. Kalimolda, S. Moldagulova,
Zh. Abay, K. Barakbayev, K. Shorayeva*

**QUALITY CONTROL PARAMETERS OF THE DOMESTIC INACTIVATED
VACCINE "QAZCOVID-IN®" AGAINST COVID-19**

УДК: 57.083.232

Вакцина препараттары таандык кылынган медицина тармагында колдонулуучу биологиялык заттарга коюлуучу негизги талаптар алардын коопсуздугу жана натыйжалуулугу болуп саналат. Бул макалада стерилдүүлүк, калдык ДНК мазмуну жана бактериялык эндотоксин мазмуну сыяктуу биологиялык заттардын негизги коопсуздук параметрлерин аныктоо боюнча иштердин натыйжалары келтирилген. Биологиялык препараттын стерилдүүлүгү түздөн-түз себүү ыкмасы менен аныкталган маданият каражаттары вакцина сериялары толугу менен стерилдүү экени аныкталган, эч кандай өсүш жүктөлгөн эмес. Бактериялык эндотоксиндерди аныктоо үчүн нами ЛАЛ-тестин колдонгон. Бактериялык эндотоксиндердин курамын аныктоо боюнча жүргүзүлгөн иштердин натыйжасында талдануучу үч сынамада 10-1 аралаштырууда жана эки 10-2 сынамыкта эндотоксиндердин болушу байкалат, бирок концентрациясы жол берилген чектик ченемден ашпайт (100 МЕ/мл, РК ГФ ылайык) жана 0,15 жана 1,5 МЕ/мл ортосунда болот. Калдык ДНКны аныктоо үчүн флуорометриялык анализ ыкмасы колдонулган, анын жердамы менен хохан анализ комплекти колдонулган. Натыйжада, иш боюнча сандык аныктоо, кармоо калдык ДНК клеткаларын Vero курамында инактивированной каршы вакцина COVID-19 "QazCovid-in®" аныкталса, бардык испытуемые вакцинанын сериясын камтыйт остаточную ДНК-жылдын \approx бнз/мл чейин 9 нг/мл Бул маанидеги ашпаса допустимую ченем (ашык эмес ≤ 20 нг/мл ылайык, ГФ РК) контролдоодо сапатын вакцина препараттары.

Негизги сөздөр: стерилдүүлүк, бактериялык эндотоксиндер, калдык клетка ДНКсы, инактивацияланган вакцина, сапаты көзөмөлдөө.

Главными требованиями, предъявляемыми к применяемым в области медицины биопрепаратам, к которым относятся вакцинные препараты, является их безопасность и эффективность. В данной статье представлены результаты работ по определению одних из основных параметров безопасности биопрепаратов, таких как стерильность, содержание остаточной ДНК и содержание бактериальных эндотоксинов. Стерильность биопрепарата определялась методом прямого

посева на питательные среды где было установлено, что испытуемые серии вакцин полностью стерильны, никаких проростов обнаружено не было. Для определения бактериальных эндотоксинов нами был использован ЛАЛ-тест. В результате проведенных работ по определению содержания бактериальных эндотоксинов установлено, что в анализируемых трех пробах в разведении 10^{-1} и в двух пробах 10^{-2} наблюдается содержание эндотоксинов, но концентрация не превышает предельно допустимую норму (100 МЕ/мл, согласно ГФ РК) и составляет между 0,15 и 1,5 МЕ/мл. Для определения остаточного ДНК был использован метод флуорометрического анализа с использованием набора для анализа Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) от Life Technologies. В результате работы по количественному определению содержания остаточной ДНК культуры клеток Vero в составе инактивированной вакцины против COVID-19 «QazCovid-in®» установлено, что все испытуемые серии вакцины содержат остаточную ДНК от \approx бнз/мл до 9 нг/мл. Это значения не превышает допустимую норму (не более ≤ 20 нг/мл, согласно ГФ РК) при контроле качества вакцинных препаратов.

Ключевые слова: стерильность, бактериальные эндотоксины, остаточная клеточная ДНК, инактивированная вакцина, контроль качества.

The main requirements for biologics used in the field of medicine, which include vaccine preparations, are their safety and effectiveness. This article presents the results of work on determining one of the main safety parameters of biological products, such as sterility, residual DNA content and bacterial endotoxins. The sterility of the biological product was determined by direct seeding on nutrient media, where it was found that the test series of vaccines were completely sterile, no seedlings were found. To determine bacterial endotoxins, we used a LAL test. As a result of the work carried out to determine the content of bacterial endotoxins, it was found that in the analyzed three samples in dilution 10^{-1} and in two samples 10^{-2} , the content of endotoxins is observed, but the concentration does not exceed the maximum permissible norm (100 IU/ml, according to the SP RK) and is between 0.15 and 1.5 IU/ml. To determine the residual DNA, a fluorometric analysis method was used using the Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) analysis kit from Life Technologies. As a result of the quantitative determination of

the residual DNA content of Vero cell culture in the inactivated vaccine against COVID-19 "QazCovid-in®", it was found that all test series of the vaccine contain residual DNA from ≈ 6 ng/ml to 9 ng/ml. This value does not exceed the permissible norm (no more than ≤ 20 ng/ml, according to the SP RK) in the quality control of vaccine preparations.

Key words: sterility, bacterial endotoxins, residual cellular DNA, inactivated vaccine, quality control.

Введение. В декабре 2019 года вспышка коронавирусной болезни (COVID-19) возникла и была впервые выявлена в Ухане, Китай, а затем быстро распространилась и превратилась в глобальную пандемию. Так как вакцинация является ключевым моментом при борьбе с вирусными инфекциями необходимо было незамедлительно начать работы по разработке эффективных вакцин против коронавирусной инфекции. На сегодняшний день во всем мире разрабатываются более 100 вакцин-кандидатов, ученые из разных стран вносят свой вклад в разработку вакцины против коронавируса. В числе вакцин, введенных в действие по всему миру есть и наша, отечественная вакцина, разработанная в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности «QazCovid-in®», двухдозная внутримышечная вакцина, инактивированная формалином и адьювантная гидроксидом алюминия [1-4].

Разработанная вакцина высокоэффективна тем, что в составе вакцины присутствует активное вещество, им является сам коронавирус. Он находится в цельном виде. Тогда как в других зарубежных вакцинах «ковидный» вирус взят в определенной небольшой части и является репродуктивным, то есть живым. Подобные вакцины могут дать определенные реакции. Изучение эффективности и безопасности разработанной вакцины является очень важным этапом при изучении вакцинных препаратов [5-6].

Существующая в Республике Казахстан система надзора за качеством вакцин основана не только на контроле конечной продукции, но, прежде всего, на контроле производства, гарантирующего выпуск безопасных вакцин.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ, каждое государство, даже не производящее вакцины, должно иметь национальный орган контроля. В США за качество вакцин отвечает Центр по оценке и изучению биологических препаратов (CBER), относящийся к FDA, в Англии – Национальный институт биологических стандартов и контроля (NIBSC), в Германии – институт Пауля Эрлиха [7]. В нашей стране таким органом является «Национальный Центр Экспертизы лекарственных средств» (НЦЭЛС).

Контроль качества вакцин на предприятиях-изготовителях предусматривает обязательный поэтапный контроль материала на безопасность на разных стадиях технологического процесса (входной контроль исходного сырья, контроль полуфабриката и

готовой продукции).

На каждом предприятии существует своя контрольная лаборатория, такой лабораторией в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности является лаборатория «Контроль технологии и биопрепаратов» (КТиБ). Важной особенностью системы является дублирование контроля продукции, который проводится производственными подразделениями и КТиБ. Это значительно повышает степень гарантии безопасности вакцин. При производстве и контроле вакцин предприятия широко используют стандартные операционные процедуры, разработанные в институте на основе стандартов ИЦЭЛС.

Основными требованиями, предъявляемыми к применяемым практически в любой области медицины биопрепаратам, к которым отнесены вакцинные препараты, является их безопасность и эффективность [7]. Учитывая, что значительная часть вакцинных препаратов предназначена для парентерального применения, определяющим критерием их микробиологической безопасности является в первую очередь стерильность. Получение стерильного медицинского препарата не контаминированного посторонней микрофлорой является первостепенной задачей производства, позволяющей исключить дополнительный риск при применении препаратов, вводимых людям.

Следующим из контролируемых примесей компонентов биопрепаратов, подлежащих строгой регламентации, являются бактериальные эндотоксины (БЭ), которые являются основным структурным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Эндотоксин, или липополисахарид (ЛПС) устойчив к физическим и химическим воздействиям, поскольку по своему физиологическому назначению обеспечивают высокую стабильность бактерий во внешней среде и в условиях организма.

Линия клеток Vero представляет собой непрерывную линию клеток, полученную из эпителиальных клеток почек африканской зеленой мартышки. Будучи легко культивируемыми и подходящими для массового производства, клетки Vero первоначально использовались для приготовления вакцин в 1980-х годах и были рекомендованы ВОЗ в качестве одного из клеточных субстратов для производства вакцин для человека. Клетки Vero широко используются для приготовления вирусных вакцин, особенно в развивающихся странах, и на их долю приходится примерно 80% мирового производства вирусных вакцин. В Китае, например, вакцина против бешенства для человека, производимая Vero Cells, занимает более 90% рынка с годовым объемом использования более 10 миллионов доз. Учитывая, что клетки Vero принадлежат к непрерывной клеточной линии и показали положительный результат теста на канцерогенность после более чем 170 пассажей, их геномная ДНК,

содержащаяся в вакцинах, может быть онкогенной и, следовательно, представляет потенциальный риск канцерогенеза человека [8]. Поэтому необходим контроль качества для ограничения остаточной ДНК клеток Vero, содержащихся в вирусных вакцинах.

Целью данной работы является определение наиболее важных показателей контроля качества био-препарата как стерильность, содержание остаточной ДНК и определение количество бактериальных эндотоксинов в биопрепаратах.

Материалы и методы. Вакцина. Объектом этого исследования является отечественная инактивированная вакцина QazCovid-in® - против COVID-19, приготовленный из инактивированного штамма коронавируса «SARS-CoV-2/KZ_Almaly/04.2020». Активная субстанция препарата получена с использованием культуры клеток Vero.

Стерильность. Испытуемые образцы засевают непосредственно в питательные среды в соотношении 1:10. Объем питательной среды должен в 10 раз превышать объем образца для посева (или объем продукта должен составлять не более 10% объема питательной среды);

Посевы инкубируют не менее 14 сут при температуре 30-35°C в жидкой тиогликолевой среде и при температуре 20-25°C в среде Сабуро [9-10].

Во время инкубации периодически просматривают посевы. Наличие роста микроорганизмов определяют визуально в проходящем свете. Если испытуемое вакцинные препараты вызывает помутнение питательной среды и визуально нельзя определить наличие или отсутствие микробного роста, через 14 сут после начала испытания переносят не менее 1 мл помутневшей среды в пробирки с аналогичной стерильной средой. Инкубируют исходные и повторные посевы. Общее время инкубации должно составлять не менее чем 14 суток от начала испытания [9-10].

Определение количественного содержания бактериальных эндотоксинов (БЭ). Определение количественного содержания БЭ проводили с помощью ЛАЛ-теста, где были использованы ЛАЛ-реактив,

вода без эндотоксинов, наконечники без эндотоксинов и пробирки из боросиликатного стекла без эндотоксинов фирмы Charles River (Чарльстон, США). Контрольный стандартный эндотоксин (КСЭ) – ЛПС из штамма Escherichia coli O55: B5 был получен от Charles River Endosafe (Lot No. EX03492) и ЛАЛ реактива (Charles River Endosafe™ Чарльстон, США).

Далее после 60±2 мин. инкубации при 37 °С пробирки проверяли путем переворачивания на 180°С на наличие образование твердого сгустка – геля, что считалось положительным результатом. Чувствительность анализа свертывания определялась как самая низкая концентрация КСЭ (0,015 EU/мл), которая все еще давала положительную реакцию.

Определение остаточной клеточной ДНК. Остаточную клеточную ДНК определяли с использованием 20 мкл образца методом флуорометрического анализа (Fluorometer 4.0) с использованием набора для анализа Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) от Life Technologies, согласно протоколу производителя. Анализ является высокоселективным для двухцепочечной ДНК (dsDNA) над РНК и чувствителен к 50 пг dsDNA (диапазон количественного определения от 10 нг/мл до 100 мкг/мл).

Результаты. Одним из главных требований к создаваемым новым вакцинам является их безопасность в применении, в том числе их стерильность, содержание остаточной ДНК и количество БЭ, которые являются одними из основных показателей качества и безопасности, которые необходимо проверять во всех инъекционных продуктах, включая вакцины.

В данной работе представлены результаты контроля основных параметров инактивированной вакцины против Covid-19 «QazCovid-in®», серии №0130521, №0260621, №0380721, №0430821, №0581021.

Определение стерильности бактериальной и грибковой контаминации испытуемых вакцин проводили согласно ГОСТ 28085-2013, на питательных средах (тиогликолевая среда и бульон Сабуро) в трехкратной повторности в течение 14 суток. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты испытания на питательных средах

Номер серии вакцины	Посев на селективных средах или стерильность исследуемого препарата		
	Тиогликолевая среда, +22 °С	Тиогликолевая среда, +37 °С	среда Сабуро, +22 °С
Вакцина №0130521	стерильно	стерильно	стерильно
Вакцина №0260621	стерильно	стерильно	стерильно
Вакцина №0380721	стерильно	стерильно	стерильно
Вакцина №0430821	стерильно	стерильно	стерильно
Вакцина №0581021	стерильно	стерильно	стерильно

По результатам испытаний в процессе визуального контроля все среды оставались свободными в течение срока наблюдения от бактериальной и грибковой контаминации.

Следующим из параметров контроля безопасности вакцин является определение количественного содержания бактериальных эндотоксинов (БЭ) (таблица 2).

Таблица 2

Содержание БЭ в инактивированной вакцины против COVID-19

№ серии	Разведение исследуемого образца на ЛАЛ-воде						Результаты ЛАЛ-тест, МДР (не более 100 МЕ/мл)
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	МДР (не более 100 МЕ/мл)	
№0130521	++	--	--	--	--	-	0,15 МЕ/мл
	++	--	--	--	--	-	
№0260621	++	++	--	--	--	-	1,5 МЕ/мл
	++	++	--	--	--	-	
№0380721	++	++	--	--	--	-	1,5 МЕ/мл
	++	++	--	--	--	-	
№0430821	++	--	--	--	--	-	0,15 МЕ/мл
	++	--	--	--	--	-	
№0581021	++	--	--	--	--	-	0,15 МЕ/мл
	++	--	--	--	--	-	
Примечания:							
1 «->» отсутствие бактериальных эндотоксинов							
2 «+» - рост микроорганизмов присутствует							

В результате проведенных работ по определению содержания бактериальных эндотоксинов установлено, что во всех анализируемых пробах в разведении 10⁻¹ наблюдается содержание эндотоксинов, концентрация не превышает допустимую нормы (100 МЕ/мл) и составляет от 0,15 до 1,5 МЕ/мл.

Характеристики процесса и теоретические проблемы безопасности, связанные с производственными примесями, обуславливают необходимость испытания вакцинного препарата на содержание остаточной ДНК. Результаты определения содержания остаточной ДНК представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты определения содержания остаточной клеточной ДНК

№ серии	№ повторности испытаний	Содержание остаточной клеточной ДНК, нг/мл	Сред. значение содержания остаточной клеточной ДНК	Неопределенность	Допустимая концентрация по АНД
№0130521	1	8,1	7,9 нг/мл	± 0,0001984	≥20 нг/мл
	2	8,42			
	3	7,2			
№0260621	1	7,23	7,98 нг/мл	± 0,0001967	
	2	8,50			
	3	8,22			
№0380721	1	8,1	7,75 нг/мл	± 0,0002014	
	2	7,46			
	3	7,7			
№0430821	1	7,3	7,16 нг/мл	± 0,002182	
	2	6,7			
	3	7,5			
№0581021	1	9,1	8,74 нг/мл	± 0,0001784	
	2	8,72			
	3	8,42			

В результате количественного определения содержания остаточной ДНК культуры клеток Vero в составе инактивированной вакцины против COVID-19 «QazCovid-in®» установлено, что все испытуемые серии вакцины содержат остаточную ДНК $\approx 6-9$ нг/мл. Это значения не превышает допустимую норму (не более ≤ 20 нг/мл, согласно ГФ РК) при контроле качества вакцинных препаратов.

Обсуждение. В этой статье описываются результаты работ по определению таких параметров безопасности биопрепарата как стерильность, содержание остаточного ДНК и содержание БЭ.

Известно, что испытание на стерильность проводится следующими методами: метод прямого посева, метод мембранной фильтрации и экспресс-микробиологический метод. Метод мембранной фильтрации используют во всех случаях, когда природа препарата, его физико-химические свойства позволяют фильтровать его через мембранные фильтры [11].

Также для определения стерильности вакцинных препаратов можно также использовать экспресс-микробиологический метод, основанные на обнаружении роста микроорганизмов с помощью технологии биолюминесценции аденозинтрифосфата (Rapid Milliflex® Detection System [RMDS]), в качестве альтернативы методу классической стерильности [12].

Самым простым и распространенным методом определения стерильности является метод прямого посева. Данный метод используют для испытания на стерильность вакцинные препараты, не обладающих антимикробным действием или антимикробное действие которых можно устранить разведением или инактивированием, а также для образцов, испытание которых невозможно выполнить вышеуказанными методами.

В данной работе стерильность биопрепарата определялась методом прямого посева на питательные среды где было установлено, что испытуемые серии вакцин полностью стерильны, никаких проростов обнаружено не было.

Для определения бактериальных эндотоксинов нами был использован ЛАЛ-тест. В результате проведенных работ по определению содержания бактериальных эндотоксинов установлено, что во всех анализируемых пробах в разведении 10^{-1} наблюдается содержание эндотоксинов, но концентрация не превышает предельно допустимую норму (100 МЕ/мл, согласно ГФ РК) и составляет 0,15 МЕ/мл.

Для определения остаточной ДНК штамма-производителя в биотехнологических продуктах используются в основном следующие методы [9-10]: молекулярная гибридизация с биотиновой или дигоксининовой меткой ДНК-зонда, полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени, система Threshold, метод с флуоресцентным реагентом. В нашей работе мы использовали метод с флуоресцентным реагентом. Количественное определение остаточной ДНК с флуоресцентным реагентом PicoGreen позволяет определять достаточно низкие количества двухцепочечной ДНК – порядка 100 пг в анализируемом образце [13]. Свободный краситель не флуоресцирует, но при связывании с двухцепочечной ДНК его флуоресценция многократно возрастает (более чем в 100 раз). Существует линейная зависимость между флуоресценцией, детектируемой прибором, и концентрацией двухцепочечной ДНК в образце. Данный метод позволяет определять всю имеющуюся в образце двухцепочечную ДНК. Особенностью красителя PicoGreen является его способность прочно связываться не только с полимерной цепью ДНК, но и с короткими (<20 пар нуклеотидов) дуплексами [13].

На сегодняшний день содержание остаточного ДНК определяется методами ПЦР в реальном времени, Threshold-анализом и методом флуорометрического анализа (Fluorometer 4.0) с использованием набора для анализа Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) от Life Technologies. Данные методы позволяют проводить количественную оценку остаточной ДНК штамма-производителя с необходимой чувствительности и точностью. Метод Threshold является высокоточным и хорошо воспроизводимым, но требует дорогостоящего оборудования и реагентов [13].

ПЦР-анализ интенсивно развивается в последние годы, обеспечивает точность, чувствительность и воспроизводимость испытаний, имеет большую пропускную способность, но правильность методики требует обоснования. Информативность ПЦР-анализа в отношении выявления остаточной ДНК в основном зависит от правильного выбора праймеров [14].

Для характеристики правильности методик на основе ПЦР и с флуоресцентным реагентом рекомендуется проведение оценки содержания ДНК в сравнении с ранее использовавшимися методами гибридизации или Threshold.

Все перечисленные методы отличаются друг от друга чувствительностью (таблица 4).

Таблица 4

Минимальные пределы обнаружения остаточной ДНК различными методами.

Минимальные пределы обнаружения остаточной ДНК различными методами			
Флуоресцентный реагент	Молекулярная гибридизация	Real-time ПЦП	Система Threshold
0,2 нг	10 нг	10 фг-5 нг	2 нг
Время проведения анализа			
~ 10-15 мин	~ 2-3 часа	~ 3-4 часа	~ 3 часа

В данной работе для определения остаточной ДНК был использован метод флуориметрического анализа с использованием набора для анализа Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) от Life Technologies. В результате работы по количественному определению содержания остаточной ДНК культуры клеток Vero в составе инактивированной вакцины против COVID-19 «QazCovid-in®» установлено, что все испытываемые серии вакцины содержат остаточную ДНК от ≈ 11 нг/мл до 12 нг/мл. Это значения не превышает допустимую норму (не более ≤ 20 нг/мл, согласно ГФ РК) при контроле качества вакцинных препаратов.

Заключение. В данной статье представлены результаты работ по определению основных параметров безопасности биопрепаратов, таких как стерильность, содержание остаточной ДНК и содержание бактериальных эндотоксинов. Установлено, что все испытанные серии вакцин соответствуют нормам и являются безопасными по отношению параметрам как стерильность, содержание БЭ и содержание остаточной ДНК. Далее будут проводиться работы по изучению других, не менее важных параметров, которые так же будут подтверждать безопасность разработанной отечественной вакцины инактивированной вакцины против COVID-19 «QazCovid-in®».

Литература:

- Zhugunisov K., Zakarya K., Khairullin B., Orynbayev M., Abduraimov Y., Kassenov M., Sultankulova K., Kutumbetov L. Development of the Inactivated QazCovid-in Vaccine: Protective Efficacy of the Vaccine in Syrian Hamsters. *Frontiers in Microbiology*. V. 12. 2021.
- Wambani, J., Okoth, P. Scope of SARS-CoV-2 variants, mutations, and vaccine technologies. *Egypt J Intern Med*. 2022. V. 34.
- Ita K. Coronavirus Disease (COVID-19): Current Status and Prospects for Drug and Vaccine Development. *Arch Med Res*. 2021. V. 2(1). P. 15-24.
- Bertsimas D., Ivanhoe J., Jacquillat A., Li M., Previero A., Lami O.L., Bouardi H.T. Optimizing Vaccine Allocation to Combat the COVID-19 Pandemic. 2020. P. 1-27.
- Feng C.Z., Yu H.L., Xu H.G., Li H.H., Wen J.W., Jing X.L., Shi P.W., Bu S.W., Zhao W., Lei W., Si Y.J., Hu D.J., Ling W., Tao J., Yi H., Jin B.G., Sha B.X., Jun J.X., Wei C. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. 2020. V. 395. P.1845-1854.
- Quan X. L., Xiao J.T., Qiu L.S., Qin L., Hai J.D., Jun Y., Jie L.H., Wei X., Yong Zh., Fa J.L., Kun S., Fan Zh., Jiang G., Bo W., Xia M.L., Jin J.L., Jing F.Q., Juan C., Ai L.H. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine*. 2020. V. 26. P.1200–1204.
- <https://yaprivit.ru/o-vaccinah/control-nad-proizvodstvom-vaccin>.
- Cao Sh., Dong G., Tang J., Li J., Liu J., Shi L., Li Ch., Wang J. Development of a Vero cell DNA reference standard for residual DNA measurement in China. *Hum Vaccin Immunother*. 2013. V. 9(2). P. 413-419.
- Государственная Фармакопеи Республики Казахстан. I, II, III том. изданной в 2014 г.
- Микробиологический контроль стерильности лекарственных средств. Лекция 10.
- Fang, E., Liu, X., Li, M. Advances in COVID-19 mRNA vaccine development. *Sig Transduct Target Ther*. 2022. V.7. P.94.
- Seema P., Simleen K., Selwyn A.W., James L.K., William M.M., Rajesh K.G. Evaluation of growth based rapid microbiological methods for sterility testing of vaccines and other biological products. *Vaccine*. 2011. V.29. P.8012-8023.
- Riyadi S., Melisa I.B. Coronavirus Disease 2019 Vaccine Development: An Overview. *Viral Immunology*. 2021. V.34.
- Mytsa E.D., Chertova N.V., Elbert E.V., Sukhno A.S., Volkova R.A., Merkulov V. A. Molecular-Biological Methods of Quality Control of Biological Active Substances Produced by Recombinant DNA Technology. *BIOpreparations Prevention Diagnosis Treatment* 2018. V.18(2). P. 75-80.