

Математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины

С.А.Швецов, Н.А.Черкасов, А.В.Ежов, С.В.Багин,
В.В.Тетерин, Д.А.Мохов

48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны РФ, Киров

Контактная информация: Швецов Сергей Александрович
610017, г. Киров, Октябрьский проспект 119, тел./факс 8(8332)38-15-27

Многочисленность влияющих факторов и их взаимосвязь в технологии таблетированной формы чумной живой вакцины обуславливают сложность протекания указанного процесса и, в случае неправильного их учета, создаются предпосылки к получению препарата или низкого качества, или вообще не соответствующего требованиям. Целью настоящей работы явилось математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины. Показано, что полученные модели оценки основных показателей качества полуфабрикатов и готового препарата обладают высокой надёжностью и диагностической эффективностью, что позволяет использовать их для контроля и управления процессами приготовления не только таблетированных, но и других форм иммунобиологических препаратов.

Ключевые слова: таблетированная форма вакцины, биотехнологический процесс, факторный анализ, математическая модель.

Успех в решении задач по организации и проведению массовой экспрессной вакцинации, позволяющей быстро иммунизировать большие контингенты людей, зависит не только от выбора оптимального способа введения препарата в организм, но и от создания новых форм выпуска вакцин [1]. Наиболее перспективной формой живых вакцин являются таблетированные препараты, состоящие из биологически активных субстанций (биокомпонента) и специального наполнителя, обеспечивающего придание таблетке необходимых физико-химических и вкусовых качеств. Это в полной мере относится и к таблетированной форме вакцины чумной живой, являющейся средством экспрессной профилактики чумной инфекции [2].

Технологический процесс получения таблетированной чумной живой вакцины

предусматривает выполнение ряда последовательных операций, направленных, в конечном итоге, на придание прессуемой смеси свойств, обеспечивающих получение готового препарата, соответствующего установленным нормативной документацией требованиям. При этом сама таблетка должна полностью удовлетворять не только нормативам, которые установлены для нее госфармакопеей как к лекарственной форме, но и содержать требуемое количество полноценных живых микробов вакцинного штамма, обеспечивающих необходимую иммунизирующую дозу [3].

Многочисленность влияющих факторов и их взаимосвязь в процессе непосредственного прессования обуславливают сложность протекания указанного процесса и, в случае неправильного их учета, создаются предпосылки к получе-

нию препарата или низкого качества, или вообще не соответствующего требованиям. Это указывает на необходимость изучения закономерностей процесса прессования и нахождения математических зависимостей, описывающих взаимосвязи между влияющими факторами и показателями качества готовой таблетки, с целью дальнейшей оптимизации процесса.

К настоящему времени математическое описание процессов подготовки таблеточных смесей, содержащих сухой биокomпонент, к прессованию, и собственно их таблетирование не нашли широкого освещения в отечественной литературе, несмотря на ряд публикаций, посвященных получению такого рода биопрепаратов [4, 5, 6]. Это послужило основанием для проведения соответствующих исследований и обсуждения полученных результатов.

С учетом изложенного, целью настоящей работы явилось математическое моделирование процесса приготовления таблетированной формы чумной живой вакцины.

Материалы и методы

Объектом исследования служили структура и характер многофакторных отношений между технологическими параметрами и показателями качества таблетированной формы чумной живой вакцины, которые представляют собой цепь причин и следствий.

Предметом исследования было выявление из множества возможных причин «мнимых», якобы вызывающие брак, и «реальных» факторов, действительно ведущих к снижению качества вакцины. Оценку вклада отобранных «немногочисленных существенно важных» факторов в изменение качества продукции

проводили методом математического моделирования.

Анализу подвергалась технология получения вакцины чумной живой таблетированной. В работе исследовалось 10 серий готовой формы вакцины и ее полуфабрикатов. База данных, характеризующих технологический процесс приготовления таблетированной вакцины, сформирована на основе результатов контроля основных стадий производства: приготовление концентрированной суспензии клеток вакцинного штамма, ее обезвоживание, приготовление таблеточной массы и таблетки. Каждая из стадий представлена в базе данных соответствующим набором характеристик, которые и исследовались с использованием математического аппарата — факторного, дискриминантного и регрессионного анализов. Алгоритмы расчёта целевых функций реализованы на ПЭВМ.

Для изучения влияние комплекса технологических факторов на качество вакцины определяющими показателями были выбраны специфическая активность и механическая прочность таблетки.

При получении сокращенного математического описания объекта исследования применяли факторный метод анализа [7]. Для оценки вклада каждого параметра в действие определённого фактора использован графический метод, где обобщающие факторы представлены двумя осями, а параметры — векторами, проведёнными из начала координат в точки с координатами соответствующих факторных нагрузок.

Величины нагрузок измеряемых параметров на оси координат показывают степень их зависимости от определяющих факторов. Сумма квадратов нагрузок по каждому фактору составляет итоговый вклад параметров в суммар-

ную дисперсию всех параметров. Основным (ведущим) фактором в системе считается тот, на который приходится большая доля общей дисперсии. Коэффициенты корреляций в факторном пространстве между параметрами равны произведению длин векторов, умноженных на косинус угла между ними. Вращение оси координат позволяет, изменять нагрузки на факторы при неизменных коэффициентах корреляции между параметрами и суммарной дисперсии. Для интерпретации факторных решений угол вращения осей подбирали таким образом, чтобы графическое изображение имело вид, при котором параметры, характеризующие хорошо знакомые свойства системы, имели бы столь высокие нагрузки на соответствующий фактор, насколько это возможно. Полученная окончательная матрица нагрузок, объясняющая вариации отдельных параметров действием двух обобщающих факторов, позволяет исключить из дальнейшего исследования параметры с минимальным влиянием. После отбора наиболее информативных показателей, на их основе разрабатывали математические модели соответствующей стадии биотехнологического процесса. Для этой цели использовали аппарат регрессионного анализа [8].

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенного факторного анализа свидетельствуют, что не менее 50 % (51, 96) изменений всех параметров, характеризующих процесс высушивания, смешивания обезвоженной культуры с гранулятом и прессования смеси в таблетку можно описать действием 2-х основных факторов: биологического (Ф2), представляющего собой обобщенное влияние свойств биологическо-

го компонента, и технологического (Ф1), представляющего обобщенное влияние группы технических параметров на формирование основных показателей качества — концентрации живых микробов в таблетке и ее механическую прочность.

Анализ показал, что технологический фактор является определяющим в формировании качества таблетки. На его долю приходится большая часть «объясненной» дисперсии. На рисунках 1 и 2 представлен пример графического изображения исходного и итогового факторных решений по стадии приготовления сухой микробной культуры при производстве таблетированной чумной вакцины.

На стадии приготовления сухой культуры (рис. 1) технологический фактор идентифицируется изменениями параметров, характеризующих условия сублимационного высушивания — продолжительность замораживания (Тзам), разрежение в сублимационной камере (Рсуб), продолжительность (Тдос) и температура досушивания (tdос). Изменение указанных векторов обратно направлению изменения фактора Ф1.

Параметры, определяющие условия подготовки вакцинной взвеси к высушиванию и режим ее замораживания, имеют низкие нагрузки на технологический фактор, что свидетельствует об их малой значимости для пространства исследуемых признаков и является основанием для исключения из дальнейших расчетов.

Биологический фактор (Ф2) процесса высушивания идентифицируется векторами параметров, которые характеризуют свойства жидкого биокон компонента, такими, как общее содержание клеток в вакцинной взвеси (ОКвв), концентрация в ней жизнеспособных клеток (БКвв) и её кислотность (рНвв). Биологический фактор определяет лишь 16,80 % диспер-

сии параметров и поэтому его влияние на поведение системы менее значимо.

Факторный анализ показал, что технологический и биологический факторы не равноценны по своему влиянию на сохранение жизнеспособной биомассы в культуре после сублимационного высушивания (БКск). После определения векторов, которые имели на факторы наибольшую нагрузку, было составлено итоговое графическое решение, которое описывает 71,2 % изменений всех параметров, характеризующих процесс обезвоживания вакцинной взвеси. На его основе сформировали пространство признаков, вносящих наибольший вклад в изменение показателя концентрации живых клеток в сухой культуре. Полученный набор признаков использовали в качестве исходных для математического описания процесса обезвоживания вакцинной взвеси. Итоговое факторное решение по стадии приготовления сухой культуры и аналитическое выражение модели представлены на рисунке 2 и аналитическом выражении (1).

$$\text{БКск} = 14,29 - 0,24 \cdot \text{ОКвв} + 2,69 \cdot \text{БКвв} + 32,18 \cdot \text{Тдос} + 0,66 \cdot \text{тдос}, (1)$$

где: БКск — концентрация жизнеспособных клеток в сухой микробной культуре, млрд кл.в см³;

14,29 — свободный член;

ОКвв — общее содержание клеток в вакцинной взвеси, млрд кл.в см³;

БКвв — концентрация жизнеспособных клеток в вакцинной взвеси, млрд кл.в см³;

Тдос — продолжительность досушивания, ч;

тдос — температура досушивания, °С.

Представленное уравнение имеет высокую сходимость с экспериментальными данными (коэффициент множествен-

ной регрессии равен 0,77 при критическом 0,71, а коэффициент детерминации - 0,59).

Аналогичным образом с помощью факторного анализа определялось влияние технологического и биологического факторов в процессе приготовления таблеточной массы и на стадии приготовления готовой формы вакцинного препарата. Итоговые факторные решения относительно показателей концентрации жизнеспособных клеток в таблеточной массе (БКтм) и готовой таблетке (БКт) позволили представить взаимосвязи параметров на этих стадиях в виде функций (2) и (3).

$$\text{БКтм} = 41,67 + 0,42 \cdot \text{БКск} - 10,66 \cdot \text{Тхр/ск} - 4,95 \cdot \text{ДВэ} + 5,33 \cdot \text{ДВк}, (2)$$

где: БКтм — концентрация жизнеспособных клеток в таблеточной массе, млрд кл.в см³;

41,67 — свободный член;

БКск — концентрация жизнеспособных клеток в сухой микробной культуре, млрд кл.в см³;

Тхр/ск — продолжительности хранения сухой культуры, ч;

ДВэ — давление воздуха на эжекторе смесителя, кПа;

ДВк — давление воздуха на соплах смесителя, кПа.

Представленное уравнение имеет высокую сходимость с экспериментальными данными (коэффициент множественной регрессии равен 0,87 при критическом 0,71, а коэффициент детерминации - 0,73).

$$\text{БКт} = 170,35 + 0,056 \cdot \text{БКтм} - 16,23 \cdot \text{Вмп} - 18,29 \cdot \text{Спр} - 0,50 \cdot \text{Дпр} + 15,11 \cdot \text{Дт}, (3)$$

где: БКт — концентрация жизнеспособных клеток в таблетке, млрд кл.в см³; 170,35 — свободный член;

БКтм — концентрация жизнеспособных клеток в таблеточной массе, млрд кл.в см³;

Вмп — высота матричного пространства, мм;

Спр — скорость прессования, мм.с⁻¹;

Дпр — давление прессования, МПа;

Дт — диаметр таблетки, мм.

О надёжности прогностической оценки содержания живых микробов в готовом таблетированном препарате с использованием представленной функции свидетельствует коэффициент множественной корреляции, равный 0,92 ($R_{t0,95} = 0,75$) и коэффициент детерминации, равный 0,85.

Что же касается остальных показателей из выборки экспериментальных данных, не вошедших в представленные модели, их недостаточная информационная значимость, по-видимому, обусловлена незначительным влиянием на результаты соответствующей технологической операции, а также, возможно, методиками их определения. Дальнейшие исследования и расширение базы данных позволят уточнить сделанные выводы.

Изучение влияния технологических параметров на такой показатель качества таблетки, как её механическая прочность, имеет смысл только на стадии прессования таблеточной массы. Поэтому в факторном анализе были использованы параметры, характеризующие свойства таблеточной массы и режим её прессования. Для анализа нагрузок угол вращения оси координат подбিরали так, чтобы вектор, отражающий изменение значений механической прочности совпадал с осью координат Ф1. Наи-

большую нагрузку на Ф1 имели параметры: скорость прессования (Спр), высота матричного пространства (Вмп), масса таблетки (Мт) и давление прессования (Дпр). Нагрузка остальных векторов на эту ось значительно ниже. Отобранные параметры, вектора которых имели наибольшую нагрузку на Ф1 (в том числе и диаметр таблетки), были использованы в качестве исходных для расчёта множественной регрессии.

Окончательный вид полученной модели представлен выражением (4):

$$\text{МПт} = 0,27 - 0,11 \cdot \text{Тхр/тм} - 0,17 \cdot \text{Вмп} + 0,20 \cdot \text{Спр} + 0,03 \cdot \text{Дпр} + 0,21 \cdot \text{Дт} - 0,43 \cdot \text{Мт}, \quad (4)$$

где: МПт — механическая прочность таблетки на истирание, процент;

0,27 — свободный член;

Тхр/тм — продолжительность хранения таблеточной массы, ч;

Вмп — высота матричного пространства, мм;

Спр — скорость прессования, мм.с⁻¹;

Дпр — давление прессования, МПа;

Дт — диаметр таблетки, мм;

Мт — масса таблетки, г.

Высокие значения коэффициента детерминации (0,83) и множественной корреляции ($R=0,91$ при $R_{t0,95}=0,81$) для представленного уравнения свидетельствуют о том, что полученная математическая модель значимо описывает 83 % изменений всех технологических параметров, оказывающих существенное влияние на формирование значения показателя механической прочности получаемой таблетки.

Таким образом, реализованный подход к разработке математического описания технологических процессов приготовления таблетированной формы чум-

ной вакцины, предусматривающий выявление наиболее значимых показателей на основе исследования взаимосвязей в изучаемом многопараметрическом пространстве с использованием факторного анализа, продемонстрировал свою эффективность при решении задач моделирования биотехнологических процессов. Полученные модели оценки основных показателей качества полуфабрикатов и готового препарата обладают высокой надёжностью и диагностической эффективностью, что позволяет использовать их для контроля и управления процессами приготовления не только таблетированных, но и других форм иммунобиологических препаратов.

Список литературы

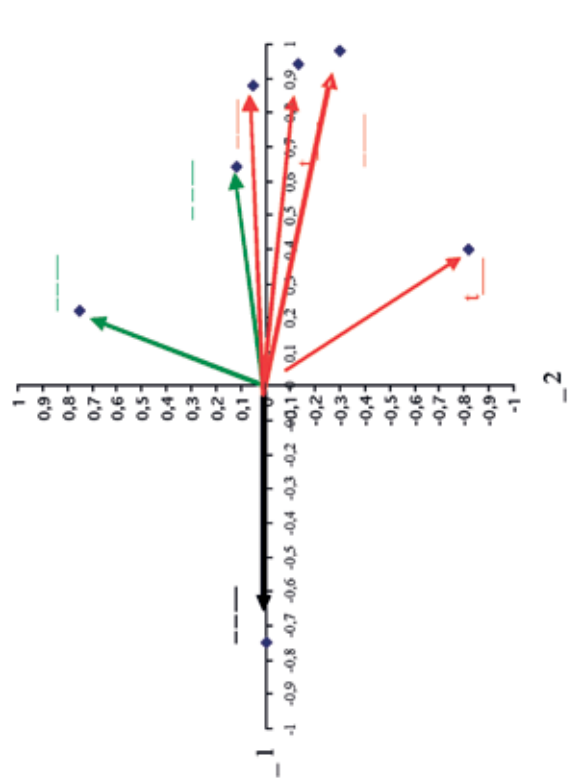
1. *Онищенко Г.Г., Дроздов И.Г.* Актуальные проблемы противодействия биологической опасности // Вестник РАМН. – 2004. – № 5. – с.14-20.
2. *Воробьев А.А., Лебединский В.А.* Массовые способы иммунизации. М.: Медицина. – 1977. – с. 256.
3. *Воробьев А.А., Земсков В.М., Лебединский В.А. и др.* Пероральная иммунизация живой чумной вакциной ЕВ в эксперименте на животных // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 1969. – № 8. – с. 112-116.
4. *Белявская В.А., Ромашова Н.Г., Сорокулова И.Б. и др.* Разработка технологии получения таблеточной формы препарата субалин // Биотехнология. – 2002. – № 2. – с. 64-69.
5. *Смирнов А.О., Садовой Н.В., Литусов Н.В. и др.* Выживаемость бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* при прессовании таблеток биоспорина // Биотехнология. – 1997. – № 4. – с. 17-21.
6. *Смирнов А.О., Харечко А.Т., Садовой Н.В. и др.* Разработка технологии таблеточной формы препарата Биоспорин // Биотехнология. – 1996. – № 11. – с. 51-55.
7. *Таршиш М.Г., Константинов В.М.* Математические методы в эпизоотологии. М.: Колос. – 1975. – с.176.
8. *Львовский Е.Н.* Статистические методы построения эмпирических формул. М.: Высшая школа. – 1982. – с. 239.

Mathematical modeling of preparation of lozenge-formed live plague vaccine

S.A.Shvetsov, N.A.Cherkasov, A.V.Ezhov, S.V.Bagin, V.V.Teterin, D.A.Mokhov

Wide range of influence factors and their interrelation at producing lozenge-formed live plague vaccines is making the specified process difficult: when being incorrectly assessed, the preparation is possible to be of low quality or inappropriate to requirements. Aim of the given work is to mathematically model the process of preparation of lozenge-formed live plague vaccine. Developed models for assessing significant parameters of quality of the semi-manufactured goods and complete preparation were proved to be of high reliability and diagnostic efficiency that allows to use them for monitoring and arranging the process of producing lozenged as well as other forms of immunobiological preparations.

Key words: lozenge-formed vaccine, biotechnological process, factor analysis, mathematical model



Обозначение фактора	Нагрузки параметров на факторы							Дисперсия, процент
	Номер и сокращенное обозначение параметров условий приготовления сухой культуры							
	ОКвв	БКвв	Тзам	ткнд	Тдос	тдос	БКск	
Ф1 _{технологичес.}	0,12	0,75	0,05	-0,82	-0,30	-0,13	0,00	19,2
Ф2 _{биологический}	0,64	0,22	0,88	0,4	0,98	0,94	-0,75	52,0
Итого:								71,2

Примечания: БКск – концентрация жизнеспособных клеток в сухой микробной культуре, ОКвв – общее содержание клеток в вакциновой взвеси, БКвв – концентрация жизнеспособных клеток в вакциновой взвеси, Тзам – продолжительность замораживания, Тдос – продолжительность досушивания, тдос – температура досушивания, ткнд – температура конденсатора.

Рис. 2. Итоговое графическое изображение факторного решения по стадии приготовления сухой микробной культур