

УДК 615.371:57.08

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25>

Обзорная статья | Review article



## Современные нормативные требования к проведению доклинических исследований профилактических вакцин

Д.В. Горенков, Е.И. Комаровская, А.А. Солдатов✉, Ж.И. Авдеева, В.П. Бондарев

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Солдатов Александр Алексеевич; [Soldatov@expmed.ru](mailto:Soldatov@expmed.ru)

### Резюме

К вакцинам предъявляются особые нормативные требования для оценки их качества, эффективности и безопасности. Учитывая, что Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) является основной международной организацией, координирующей проведение мероприятий по борьбе с вспышками инфекционных заболеваний, начиная с 2005 г. ВОЗ начала разработку документов, касающихся вопросов оценки качества, безопасности и эффективности вакцин. Ведущими мировыми регуляторными органами (FDA, EMA и др.) подготовлены рекомендации для проведения доклинических исследований вакцин.

**Цель работы** – критический анализ нормативных требований для доклинической оценки эффективности и безопасности вакцин, подготовленных зарубежными национальными и международными регуляторными органами.

Проведенный анализ показал, что начиная с 2000-х гг. ВОЗ и ведущими регуляторными органами мира было подготовлено более 40 нормативных документов, в которых описаны те или иные стороны проведения доклинических исследований эффективности и безопасности вакцин. Документы можно разделить на две группы: документы, посвященные общим вопросам доклинических исследований вакцин, и документы, касающиеся оценки качества, эффективности и безопасности определенных видов вакцин. В Российской Федерации последняя редакция рекомендаций для доклинической оценки качества, безопасности и эффективности иммунобиологических лекарственных препаратов была опубликована в 2013 г. и не содержит информации относительно препаратов последнего поколения. В настоящее время проводится работа по подготовке нормативно-правовой базы, касающейся лекарственных средств, в том числе вакцин, на территории государств – членов Евразийского экономического союза (ЕАЭС). Представленный в статье анализ нормативных документов по доклиническим исследованиям эффективности и безопасности вакцин может быть полезен для подготовки гармонизированных рекомендаций по соответствующим группам вакцин в рамках ЕАЭС, а также разработчикам, фармпроизводителям и ученым-исследователям, занимающимся созданием и доклиническими исследованиями вакцин.

**Ключевые слова:** вакцины; доклинические исследования; разработка вакцин; нормативное регулирование

**Для цитирования:** Горенков Д.В., Комаровская Е.И., Солдатов А.А., Авдеева Ж.И., Бондарев В.П. Современные нормативные требования к проведению доклинических исследований профилактических вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(1):7–25. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25>

## Current regulatory requirements for non-clinical evaluation of prophylactic vaccines

D.V. Gorenkov, E.I. Komarovskaya, A.A. Soldatov ✉, Zh.I. Avdeeva, V.P. Bondarev

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

✉ Aleksandr A. Soldatov; [Soldatov@expmed.ru](mailto:Soldatov@expmed.ru)

### Abstract

Vaccines are subject to specific regulatory requirements for the evaluation of their quality, safety, and efficacy. In 2005, the World Health Organisation (WHO), as the main international organisation coordinating measures to combat infectious disease outbreaks, began developing documents on the evaluation of vaccine quality, safety, and efficacy. The world's leading regulatory authorities (FDA, EMA, etc.) have also issued recommendations for conducting non-clinical studies of vaccines.

**The aim of this study** was a critical review of the regulatory requirements established by foreign national and international regulatory authorities for non-clinical evaluation of the safety and efficacy of vaccines.

According to the study results, since the 2000s, the WHO and the world's leading regulatory authorities have produced more than 40 regulatory documents describing certain aspects of non-clinical studies of the safety and efficacy of vaccines. These documents can be divided into two groups: the first group addresses non-clinical studies of vaccines in general, and the second one dwells upon the evaluation of the quality, safety, and efficacy of specific types of vaccines. For the Russian guidelines on non-clinical evaluation of the quality, safety, and efficacy of immunobiologicals, the latest revision dates back to 2013 and does not provide any information on new medicinal products. Currently, work is underway to prepare the regulatory framework for medicines, including vaccines, in the Member States of the Eurasian Economic Union (EAEU). This review of regulatory documents on non-clinical safety and efficacy studies of vaccines may be useful in drafting harmonised guidelines for the relevant groups of vaccines in the EAEU. It may also be of use to developers, manufacturers, and researchers involved in the creation and non-clinical study of vaccines.

**Key words:** vaccines; non-clinical studies; vaccine development; regulation

**For citation:** Gorenkov D.V., Komarovskaya E.I., Soldatov A.A., Avdeeva Zh.I., Bondarev V.P. Current regulatory requirements for non-clinical evaluation of prophylactic vaccines. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(1):7–25. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-1-7-25>

### Введение

В настоящее время эффективность вакцин для профилактики инфекционных заболеваний не вызывает сомнения. Вакцины не только защищают людей от инфекционных заболеваний, но и способствуют улучшению здоровья и качества жизни населения как на национальном, так и на общемировом уровнях. Кроме того, с экономической точки зрения вакцины более выгодны в сравнении с лечебными препаратами и другими видами терапии. Многолетний опыт вакцинации продемонстрировал высокий уровень безопасности данной группы препаратов [1].

Начиная с XVIII века и вплоть до 80-х годов XX века вакцины получали на основе инактивированных микроорганизмов, живых аттенуированных микроорганизмов и инактивированных токсинов (анатоксинов). Данные вакцины в сво-

ем составе содержали антигены, которые стимулировали как врожденный, так и адаптивный иммунитет.

С появлением новых биотехнологических методов (с 1980-х годов) началась разработка вакцин следующего поколения. На этом этапе основной целью разработки вакцин было снижение реактогенности и повышение безопасности уже применяемых вакцин. Исследования в данном направлении позволили не только значительно повысить уровень очистки вакцин, но и создать вакцины на основе новых технологических платформ (конъюгированные вакцины, субъединичные вакцины, вакцины на основе рекомбинантных белков и синтетических пептидов). В процессе разработки подобных препаратов во многих случаях иммуностимулирующие фрагменты, присутствующие в живых ослаблен-

ных вакцинах, могут утрачиваться, что требует включения в их состав адъювантов для усиления иммунного ответа на антигены вакцин. В последние годы были разработаны вакцины нового поколения на основе мРНК, вирусных векторов, вирусоподобных частиц и др. [2].

Известно, что вакцины существенно отличаются от других групп лекарственных средств, в первую очередь препаратов, получаемых путем химического синтеза. Во-первых, вакцины относятся к группе биологических лекарственных препаратов, то есть для их производства используется биологический источник, а для характеристики применяются, в том числе биологические методы<sup>1</sup>. Во-вторых, большинство вакцин получают из живых организмов, поэтому очень сложно охарактеризовать их состав по физико-химическим характеристикам (исключение составляют вакцины на основе синтетических антигенов и вакцины последнего поколения). В-третьих, основной механизм действия всех вакцин основан на формировании специфической защиты от инфекционного агента путем взаимодействия с системой иммунитета. В-четвертых, при создании вакцин образуется много примесей, связанных с производством, которые могут влиять на эффективность и безопасность препарата, что требует особого контроля за производством и подходов к обеспечению качества препаратов (как и для всех биологических лекарственных препаратов). В-пятых, вакцины предназначены для введения широкому кругу здоровых лиц, в связи с чем особые требования предъявляются к оценке безопасности вакцин. Основная юридическая ответственность за показатели качества, безопасности и эффективности вакцин возлагается на производителя.

К вакцинам предъявляются особые нормативные требования для оценки их качества, эффективности и безопасности. Кроме того, в последние годы в связи с пандемиями гриппа (2009–2010 гг.) и COVID-19 (с 2019 г.) значительно повысилась активность в сфере разработки вакцин с использованием новых технологических платформ, адъювантов и вспомогательных веществ, что требует дополнения и обновления уже существующих регуляторных требований для регистрации вакцин [3].

При проведении исследований с целью регистрации вакцины и при внесении серьезных изменений в производственный процесс оценка безопасности и эффективности проводится на всех этапах разработки, включая этап доклинических исследований (ДИ). Учитывая особен-

ности и разнообразие видов вакцин, в одном документе невозможно представить рекомендации по всем вопросам доклинической оценки эффективности и безопасности разных вакцин, поэтому разрабатываются отдельные документы, касающиеся частных вопросов оценки вакцин. В настоящее время активно проводится разработка единых нормативных требований к оценке качества, эффективности и безопасности и регистрации лекарственных средств на территории государств – членов Евразийского экономического союза (ЕАЭС), в том числе документов, гармонизированных с лучшими мировыми практиками.

Цель работы – критический анализ нормативных требований для доклинической оценки эффективности и безопасности вакцин, подготовленных зарубежными национальными и международными регуляторными органами.

### Доклиническая оценка вакцин

Из-за сложного механизма действия вакцин или отсутствия на момент разработки вакцины эпидемии исследования на животных обычно являются единственной возможностью охарактеризовать фармакологические и токсикологические свойства вакцин. Доклинические программы исследований для вакцин и адъювантов должны не только продемонстрировать, что вакцина является иммуногенной и обладает протективной эффективностью, но также обосновать безопасность препарата, связанную, в первую очередь, с технологическим процессом получения вакцин, учитывая использование в производстве вакцин куриных эмбрионов, клеточных линий, иммортализованных клеток и др., что предопределяет возможность присутствия в них производственных примесей, а также риски, обусловленные составом вакцин (адъюванты, стабилизаторы, вспомогательные вещества и новые устройства доставки препаратов).

Основной целью проведения ДИ вакцин является демонстрация эффективности и безопасности при введении вакцины человеку. Для демонстрации протективной эффективности вакцин обычно используются релевантные модели с заражением животных. Потенциальные риски безопасности вакцин могут быть связаны с системной и местной реактогенностью, пирогенностью, неблагоприятными иммунологическими эффектами, такими как стимуляция аутоиммунных реакций, сенсibilизация, феномен антителозависимого усиления инфекции (antibody-dependent enhancement, ADE), и в некоторых случаях –

<sup>1</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

развитием отрицательных тератогенных/репродуктивных эффектов<sup>2</sup>.

ДИ вакцин, проведенные на животных, предоставляют клиницистам данные о потенциальной токсичности, об органах или системах органов, на которые может повлиять сама вакцина, примеси или контаминанты, компоненты состава или их взаимодействия, а также о токсичности, возникающей в результате ожидаемого иммунного ответа на вакцину. Данные о токсичности вакцин также используются для определения дозы, которую можно безопасно вводить человеку, и уровня дозы, при которой эффект не наблюдается, или дозы, при которой не было выявлено токсикологически значимых результатов. Ограничения ДИ заключаются в том, что возможны редкие токсические эффекты на уровне субпопуляций, которые можно оценить только при исследовании на человеке, так как модели на животных могут не всегда отражать наблюдаемые у людей эффекты.

Поскольку вакцины представляют собой очень разнообразный класс препаратов, очень сложно создать единую стратегию для проведения ДИ. Фундаментальные принципы ДИ безопасности любых фармацевтических препаратов изложены в руководстве ICH M3 (R2)<sup>3</sup>. Некоторые подходы, описанные в данном документе, применимы и к вакцинам, однако из-за уникальных особенностей вакцин существуют значительные различия, касающиеся необходимых исследований и их дизайна. При проведении ДИ безопасности вакцин в первую очередь необходимо учитывать, что вакцины изначально предназначены для воздействия на иммунную систему, и, следовательно, оценка воздействия вакцины на иммунные органы и/или функции должна быть обязательно включена в любые токсикологические исследования.

### Нормативные документы, регламентирующие общий порядок проведения доклинических исследований вакцин

Первый документ, регламентирующий проведение ДИ вакцин «Note for guidance on

preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines» был разработан Европейским агентством по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) в 1998 г.<sup>4</sup> Документ содержал краткие общие рекомендации, касающиеся исследований: токсичности при однократном и многократном введении, иммуногенности, протективной эффективности и фармакологической безопасности. Данный документ был недостаточно подробен и в большей степени регламентировал тестирование в процессе сертификации выпускаемых серий.

Учитывая указанные недостатки документа, возникло достаточно много вопросов, связанных с оценкой эффективности и безопасности вакцин на доклиническом этапе разработки. После проведения консультаций с ведущими специалистами фарминдустрии было принято решение о начале разработки новой редакции руководства по проведению ДИ. Учитывая роль Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в работе по координации борьбы с эпидемиями в мире, разработка данного документа проводилась под эгидой ВОЗ. Руководство ВОЗ по доклинической оценке вакцин<sup>5</sup> было опубликовано в 2005 г. и явилось результатом сотрудничества экспертов из различных регуляторных органов, учреждений здравоохранения, научных организаций и производителей вакцин. Регуляторные органы стран Европейского союза (ЕС) приняли активное участие в этой работе, от Российской Федерации в разработке документа принимал участие Т.А. Бектимиров – заместитель директора Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича. Руководство ВОЗ по доклинической оценке вакцин является наиболее полным документом, касающимся общих основных вопросов проведения ДИ вакцин, и согласно мнению экспертов EMA «это руководство будет и впредь отражать глобальную и согласованную позицию, в том числе при необходимости пересмотра ориентиров»<sup>6</sup>.

<sup>2</sup> Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines (CPMP/SWP/465/95). EMA; 1997. <https://www.ema.europa.eu/en/preclinical-pharmacological-toxicological-testing-vaccines-scientific-guideline>

<sup>3</sup> ICH guideline M3 (R2) on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals—Scientific guideline, 2009. <https://www.ema.europa.eu/en/ich-m3-r2-non-clinical-safety-studies-conduct-human-clinical-trials-pharmaceuticals-scientific>

<sup>4</sup> Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines (CPMP/SWP/465/95). EMA; 1997. <https://www.ema.europa.eu/en/preclinical-pharmacological-toxicological-testing-vaccines-scientific-guideline>

<sup>5</sup> WHO guidelines on non-clinical evaluation of vaccines, Annex 1, TRS No. 927. WHO; 2005. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccines-annex-1-trs-no-927>

<sup>6</sup> Questions and answers on the withdrawal of the CPMP Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines (CPMP/SWP/465) (EMA/CHMP/SWP/242917/2016) [https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-withdrawal-cmp-note-guidance-preclinical-pharmacological-toxicological-testing/swp/465\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-withdrawal-cmp-note-guidance-preclinical-pharmacological-toxicological-testing/swp/465_en.pdf)

В руководстве<sup>7</sup> изложены вопросы, касающиеся оценки иммуногенности, токсичности, характеристики адъювантов и состава препаратов, устройств для введения вакцин, альтернативных путей введения, моделей с использованием животных, аспектов ДИ живых и комбинированных вакцин и др. В руководстве ВОЗ представлены более жесткие требования, касающиеся исследований на животных. В частности, указано, что нет необходимости в специальных исследованиях фармакологической безопасности в случае исследования токсичности при введении повтор-

ных доз и оценке конечных точек безопасности. В руководстве также обосновывается оценка токсичности при однократном введении в процессе проведения исследований при многократном введении. Также, в отличие от руководства ЕМА, в руководство ВОЗ включены аспекты проведения ДИ вакцин на основе вирусного вектора и нуклеиновых кислот.

Основные документы по ДИ вакцин разработаны (и продолжают разрабатываться) экспертами ВОЗ при активном участии специалистов регуляторных органов разных стран (табл. 1).

**Таблица 1.** Нормативные документы, регламентирующие общий порядок проведения доклинических исследований эффективности и безопасности вакцин

**Table 1.** Regulatory documents addressing the general procedure of non-clinical studies of the safety and efficacy of vaccines

Наименование документа <i>Document title</i>	Год утверждения <i>Year of approval</i>	Регуляторный орган, страна/регион <i>Regulatory authority, country/region</i>	Источник <i>Reference</i>
Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines (CPMP/SWP/465/95)	1998	ЕМА, ЕС <i>EMA, EU</i>	Сноска <sup>8</sup> <i>Footnote<sup>8</sup></i>
The Drugs and Cosmetics Act, 1940; and The Drugs and Cosmetics Rules, 1945	2005	МНФВ, Индия <i>MHFW, India</i>	Сноска <sup>9</sup> <i>Footnote<sup>9</sup></i>
WHO guidelines on non-clinical evaluation of vaccines, Annex 1, TRS No. 927	2005	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>10</sup> <i>Footnote<sup>10</sup></i>
Guideline on adjuvants in vaccines for human use (EMA/CHMP/VEG/134716/2004)	2005	ЕМА, ЕС <i>EMA, EU</i>	Сноска <sup>11</sup> <i>Footnote<sup>11</sup></i>
Considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications. Guidance for industry	2006	FDA, США <i>FDA, USA</i>	Сноска <sup>12</sup> <i>Footnote<sup>12</sup></i>
Considerations for plasmid DNA vaccines for infectious disease indications. Guidance for industry	2007	FDA, США <i>FDA, USA</i>	Сноска <sup>13</sup> <i>Footnote<sup>13</sup></i>
Guidelines for assuring the quality and non-clinical safety evaluation of DNA vaccines, Annex 1, TRS No. 941	2007	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>14</sup> <i>Footnote<sup>14</sup></i>
Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of live recombinant viral vectored vaccines (EMA/CHMP/VWP/141697/2009)	2010	ЕМА, ЕС <i>EMA, EU</i>	Сноска <sup>15</sup> <i>Footnote<sup>15</sup></i>
Guideline for non-clinical studies of vaccines for preventing infectious diseases (PFSB/ELD Notification No. 0527-1)	2010	MHLW, Япония <i>MHLW, Japan</i>	Сноска <sup>16</sup> <i>Footnote<sup>16</sup></i>

<sup>7</sup> WHO guidelines on non-clinical evaluation of vaccines, Annex 1, TRS No. 927. WHO; 2005. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccines-annex-1-trs-no-927>

<sup>8</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/preclinical-pharmacological-toxicological-testing-vaccines-scientific-guideline>

<sup>9</sup> Government of India, Ministry of Health and Family Welfare (Department of Health). The drugs and cosmetics act and rules. The drugs and cosmetics act, 1940. The drugs and cosmetics rules, 1945. (As amended up to 31 December, 2016). [https://cdsco.gov.in/opencms/export/sites/CDSCO\\_WEB/Pdf-documents/acts\\_rules/2016DrugsandCosmeticsAct1940Rules1945.pdf](https://cdsco.gov.in/opencms/export/sites/CDSCO_WEB/Pdf-documents/acts_rules/2016DrugsandCosmeticsAct1940Rules1945.pdf)

<sup>10</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccines-annex-1-trs-no-927>

<sup>11</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/adjuvants-vaccines-human-use-scientific-guideline>

<sup>12</sup> <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-developmental-toxicity-studies-preventive-and-therapeutic-vaccines-infectious-disease>

<sup>13</sup> <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-plasmid-dna-vaccines-infectious-disease-indications>

<sup>14</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/annex-1-trs941-dna-vax>

<sup>15</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/quality-non-clinical-clinical-aspects-live-recombinant-viral-vectored-vaccines-scientific-guideline>

<sup>16</sup> Guidelines for non-clinical studies of vaccines for preventing of infectious diseases (PFSB/ELD Notification No. 0527-1) (in Japanese). Ministry of Health, Labour and Welfare; 2010.

Продолжение таблицы 1

Table 1 (continued)

Наименование документа <i>Document title</i>	Год утверждения <i>Year of approval</i>	Регуляторный орган, страна/регион <i>Regulatory authority, country/region</i>	Источник <i>Reference</i>
Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты) <i>Guidelines for non-clinical studies of medicines (Immunobiological medicinal products)</i>	2012	ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, Россия <i>Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health, Russia</i>	Сноска <sup>17</sup> <i>Footnote<sup>17</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of DT-based combined vaccines, Annex 6, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>18</sup> <i>Footnote<sup>18</sup></i>
Guidelines on the non-clinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines, Annex 2, TRS No. 987	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>19</sup> <i>Footnote<sup>19</sup></i>
Адъюванты вакцин для лечения и профилактики заболеваний человека (глава 16). Решение Совета ЕЭК № 89 <i>Adjuvants for vaccines to treat and prevent human diseases (Module 16). Decision No. 89 of the EEC</i>	2016	Совет ЕЭК, ЕАЭС <i>Council of the EEC, EAEU</i>	Сноска <sup>20</sup> <i>Footnote<sup>20</sup></i>
Guidelines on the quality, safety and efficacy of plasmid DNA vaccines, Annex 2, TRS No. 1028	2021	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>21</sup> <i>Footnote<sup>21</sup></i>

*Примечание.* ЕМА – Европейское агентство по лекарственным средствам; ЕС – Европейский союз; МНФВ – Министерство здравоохранения и благосостояния семьи; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; FDA – Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств; МНЛВ – Министерство здравоохранения, труда и благосостояния; ЕЭК – Евразийская экономическая комиссия; ЕАЭС – Евразийский экономический союз.

*Note.* EMA, European Medicines Agency; EU, European Union; МНФВ, Ministry of Health and Family Welfare; WHO, World Health Organisation; FDA, Food and Drug Administration; МНЛВ, Ministry of Health, Labour and Welfare; EEC, Eurasian Economic Commission; EAEU, Eurasian Economic Union.

Создание новых препаратов стимулировало подготовку рекомендаций по актуальным проблемам разработки и регистрации вакцин. Были подготовлены руководства по исследованию комбинированных вакцин, ДНК-вакцин, вакцин для введения беременным и др., в которые были включены разделы, касающиеся ДИ (табл. 1). Оценка токсичности (безопасности) всех препаратов, вводимых беременным, регламентируется документом ICH S5(R3)<sup>22</sup>. Однако стратегии доклинических исследований, изложенные в данном документе, могут быть неприменимы непосредственно к вакцинам, и дизайн исследований может потребовать адаптации с учетом особенностей вакцин.

Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food

and Drug Administration, FDA) было подготовлено руководство по оценке влияния вакцин на беременность, развитие плода и младенцев в период грудного вскармливания<sup>23</sup>. В документе рассматриваются риски безопасности, связанные с влиянием вакцин на развитие иммунного ответа, при введении аттенуированных, инактивированных, рекомбинантных, полинуклеотидных, полисахаридных, белковых, векторных и конъюгированных вакцин. Рекомендовано предоставлять обоснование выбора модели животного для проведения исследования онтогенетической токсичности, которое должно включать демонстрацию того, что у выбранного вида животного вырабатывается иммунный ответ на вакцинный антиген; при этом допустимы отдельные межвидовые количественные и качественные отличия

<sup>17</sup> Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012.

<sup>18</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/annex-6-trs980-combined-vax>

<sup>19</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccine-adjuvants-and-adjuvanted-vaccines-annex-2-trs-no-987>

<sup>20</sup> Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

<sup>21</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/plasmid-dna-vaccines-annex-2-trs-no-1028>

<sup>22</sup> ICH guideline. Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals S5(R3), 2020. <https://ich.org/page/safety-guidelines>

<sup>23</sup> Considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications. Guidance for industry. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-developmental-toxicity-studies-preventive-and-therapeutic-vaccines-infectious-disease>

в иммунном ответе<sup>24</sup>. Наиболее часто используемыми видами в исследованиях онтогенетической токсичности являются крысы, кролики и мыши. При этом в некоторых случаях адекватный иммунный ответ может быть показан только на приматах. В дополнение к демонстрации иммунного ответа при вакцинации беременных самок рекомендуется провести оценку влияния на плод материнских антител против антигена вакцины. Поскольку существуют различия между приматами, негрызунами и видами животных-грызунов с точки зрения времени передачи материнских антител потомству, рекомендуется оценка пре- и постнатального воздействия материнских антител на потомство в качестве критерия для выбора наиболее подходящей экспериментальной модели. Кроме того, у выбранного вида животных должны быть охарактеризованы изменения во внутриутробном и постнатальном развитии.

В руководстве ВОЗ по доклинической оценке вакцинных адъювантов и адъювантных вакцин, а также в документе «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» изложены подходы к исследованию новых адъювантов, которые включают сравнительные исследования готовой формы вакцинного препарата, вакцины без адъюванта и самого адъюванта<sup>25</sup>.

В период разработки первых ДНК-вакцин были подготовлены руководства, посвященные вопросам оценки качества, безопасности и эффективности ДНК-вакцин. ДНК-вакцины представляют собой очищенные плазмидные препараты, способные индуцировать и/или стимулировать иммунный ответ против патогена. ВОЗ и FDA были подготовлены руководства, касающиеся ДИ ДНК-вакцин<sup>26</sup>.

Развитие пандемии COVID-19 резко стимулировало рост исследований по разработке вакцин, поэтому с учетом накопленного опыта ВОЗ подготовило новую редакцию руководства по ДНК-вакцинам в 2021 г.<sup>27</sup> С учетом развития пандемии COVID-19 в документе большое внимание уделено возможности ускоренного проведения ДИ. В последней редакции руководства ВОЗ указано, что ДИ ДНК-вакцин проводятся на основании руководства ВОЗ по доклинической оценке вакцин и руководства ВОЗ по доклинической оценке вакцинных адъювантов и адъювантных вакцин<sup>28</sup>. В случаях ДНК-вакцин, кодирующих кроме антигена цитокин или другой иммуномодулирующий белок, при выборе модели на животных может потребоваться учет видовой специфичности и проведение исследования для демонстрации протективной эффективности с использованием видовых аналогов разрабатываемого продукта для человека. Токсикологические исследования, в том числе оценка иммуно-токсичности, могут быть выполнены с продуктом и/или аналогом, специфичным для человека.

Другой потенциальной проблемой при доклинической оценке ДНК-вакцин может быть их использование в гетерологичных схемах первичной бустерной вакцинации. В случаях, если отсутствуют доклинические или клинические данные об отдельных вакцинах, используемых в схеме (или, по крайней мере, о компоненте схемы с ДНК-вакциной), программа ДИ должна быть разработана на основании рекомендаций ВОЗ<sup>29</sup> и в соответствии с GLP<sup>30</sup>. Однако при наличии значительного клинического опыта применения схем с вакцинами, экспрессирующими одни и те же или родственные иммуногены, программа ДИ может быть сокращена [4]. Например, в случае, если в состав вакцины входят другие белки обо-

<sup>24</sup> Там же.

<sup>25</sup> Guidelines on the non-clinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines, Annex 2, TRS No. 987. WHO; 2014. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccine-adjuvants-and-adjuvanted-vaccines-annex-2-trs-no-987>

Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

<sup>26</sup> Considerations for plasmid DNA vaccines for infectious disease indications. Guidance for industry. FDA; 2007. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/considerations-plasmid-dna-vaccines-infectious-disease-indications>

Guidelines for assuring the quality and non-clinical safety evaluation of DNA vaccines, Annex 1, TRS No. 941. WHO; 2007. <https://www.who.int/publications/m/item/annex-1-trs941-dna-vax>

<sup>27</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of plasmid DNA vaccines, Annex 2, TRS No. 1028. WHO; 2021. <https://www.who.int/publications/m/item/plasmid-dna-vaccines-annex-2-trs-no-1028>

<sup>28</sup> WHO guidelines on non-clinical evaluation of vaccines, Annex 1, TRS No. 927. WHO; 2005. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccines-annex-1-trs-no-927>

Guidelines on the non-clinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines, Annex 2, TRS No. 987. WHO; 2014. <https://www.who.int/publications/m/item/nonclinical-evaluation-of-vaccine-adjuvants-and-adjuvanted-vaccines-annex-2-trs-no-987>

<sup>29</sup> Там же.

<sup>30</sup> Good laboratory practice for nonclinical laboratory studies (21 CFR Parts 16 and 58). FDA, 2016. <https://www.federalregister.gov/documents/2016/08/24/2016-19875/good-laboratory-practice-for-nonclinical-laboratory-studies>

лочки вируса или другие гемагглютинины вируса гриппа, или в случае, если в аминокислотную последовательность ранее используемой вакцины вносятся лишь ограниченные модификации. Аналогично для новых ДНК-вакцин на основе уже существующих плазмидных конструкций, для которых уже имеется значительный доклинический (и, возможно, клинический) опыт, следует рассмотреть сокращенную программу ДИ [5, 6]. Если новая ДНК-вакцина содержит вставку гена, кодирующего антиген, который уже был ранее изучен в доклинических (и, возможно, клинических) программах, безопасная начальная доза и режим введения для новой вакцины могут быть установлены на основе существующих доклинических и клинических данных без необходимости дополнительных токсикологических исследований. В случаях, если уже проведены клинические исследования вакцины на основе плазмидной конструкции, кодирующей родственный антиген (например, если в случае пандемического штамма гриппа тестировался антиген сезонного или другого потенциально пандемического штамма), доклиническая программа может ограничиваться исследованием иммуногенности. Однако в таком исследовании должно быть собрано как можно больше данных о безопасности. В случае если животных умерщвляют в конце исследования иммуногенности, следует провести макроскопическую и гистологическую оценку патологических изменений<sup>31</sup>.

Особенности ДИ комбинированных вакцин представлены в рекомендациях ВОЗ по ДИ комбинированных вакцин на основе дифтерийного и столбнячного антигенов<sup>32</sup>. Токсикологические исследования готовой формы вакцины рекомен-

дуется проводить с учетом рекомендаций руководства ВОЗ по доклинической оценке вакцин (2005 г.). В руководстве указано, что в первую очередь необходимо оценить интенсивность иммунного ответа на каждый антиген, а также возможность потенциальной интерференции и/или несовместимости между антигенами. Для этого необходимо провести сравнительные исследования с отдельными компонентами (моноантигенами) вакцины. При исследовании иммуногенности готовой формы вакцины рекомендуется проводить сравнительную оценку с теми же антигенами (моноантигенами), которые используются в зарегистрированных вакцинах. В некоторых случаях в качестве вакцины сравнения может быть использована зарегистрированная комбинированная вакцина, содержащая меньшее количество антигенов, чем исследуемая вакцина (например, АКДС может использоваться в качестве препарата сравнения для комбинированной вакцины АКДС-геРВ)<sup>33</sup>.

### Рекомендации для доклинических исследований конкретных видов вакцин

Руководство ВОЗ по доклинической оценке вакцин касается общих аспектов ДИ, в то же время исследования конкретных вакцин имеют свои особенности. В связи с этим было разработано около 30 руководств, в которых представлены рекомендации по оценке качества, доклиническим и клиническим исследованиям конкретных вакцин (табл. 2). Кроме того, регуляторными органами в ответ на развитие пандемии (например, пандемия гриппа 2009–2010 гг.) были подготовлены документы, регламентирующие доклинические исследования некоторых типов вакцин (табл. 2).

**Таблица 2.** Нормативные документы, регламентирующие проведение доклинических исследований эффективности и безопасности отдельных вакцин

**Table 2.** Regulatory documents addressing non-clinical studies of the efficacy and safety of specific vaccines

Наименование документа <i>Document title</i>	Год утверждения <i>Year of approval</i>	Регуляторный орган <i>Regulatory authority</i>	Источник <i>Reference</i>
Note for guidance on the development of vaccinia virus-based vaccines against smallpox (CPMP/1100/02)	2002	EMA	Сноска <sup>34</sup> Footnote <sup>34</sup>
Recommendations for whole-cell pertussis vaccine, Annex 6, TRS No. 941	2007	ВОЗ WHO	Сноска <sup>35</sup> Footnote <sup>35</sup>
Guidelines to assure the quality, safety and efficacy of live attenuated rotavirus vaccines (oral), Annex 3, TRS No. 941	2007	ВОЗ WHO	Сноска <sup>36</sup> Footnote <sup>36</sup>

<sup>31</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of plasmid DNA vaccines, Annex 2, TRS No. 1028. <https://www.who.int/publications/m/item/plasmid-dna-vaccines-annex-2-trs-no-1028>

<sup>32</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of DT-based combined vaccines, Annex 6, TRS No. 980. WHO; 2014. <https://www.who.int/publications/m/item/annex-6-trs980-combined-vax>

<sup>33</sup> Там же.

<sup>34</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/development-vaccinia-virus-based-vaccines-against-smallpox-scientific-guideline>

<sup>35</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/whole-cell-pertussis-vaccine-annex-6-trs-no-941>

<sup>36</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/oral-live-attenuated-rotavirus-vaccines-annex-3-trs-no-941>



Продолжение таблицы 2  
Table 2 (continued)

Наименование документа <i>Document title</i>	Год утверждения <i>Year of approval</i>	Регуляторный орган <i>Regulatory authority</i>	Источник <i>Reference</i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of group A meningococcal conjugate vaccines, Annex 2, TRS No. 962	2011	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>37</sup> <i>Footnote<sup>37</sup></i>
Recommendations for Japanese encephalitis vaccine (inactivated) for human use, Annex 1, TRS No. 963	2011	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>38</sup> <i>Footnote<sup>38</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of BCG vaccines, Annex 3, TRS No. 979	2013	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>39</sup> <i>Footnote<sup>39</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines, Annex 4, TRS No. 978	2013	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>40</sup> <i>Footnote<sup>40</sup></i>
Guidelines on the quality, safety and efficacy of dengue tetravalent vaccines (live, attenuated), Annex 2, TRS No. 979	2013	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>41</sup> <i>Footnote<sup>41</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of influenza vaccines (human, live attenuated) for intranasal administration, Annex 4, TRS No. 977	2013	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>42</sup> <i>Footnote<sup>42</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of live attenuated yellow fever vaccines, Annex 5, TRS No. 978	2013	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>43</sup> <i>Footnote<sup>43</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of diphtheria vaccines (adsorbed), Annex 4, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>44</sup> <i>Footnote<sup>44</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use, Annex 7, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>45</sup> <i>Footnote<sup>45</sup></i>
Guidelines on the quality, safety and efficacy of recombinant malaria vaccines targeting the pre-erythrocytic and blood stages of <i>Plasmodium falciparum</i> , Annex 3, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>46</sup> <i>Footnote<sup>46</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines, Annex 4, TRS No. 979	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>47</sup> <i>Footnote<sup>47</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (oral, live, attenuated), Annex 2, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>48</sup> <i>Footnote<sup>48</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of tetanus vaccines (adsorbed), Annex 5, TRS No. 980	2014	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>49</sup> <i>Footnote<sup>49</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated), Annex 3, TRS No. 993	2015	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>50</sup> <i>Footnote<sup>50</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant human papillomavirus virus-like particle vaccines, Annex 4, TRS No. 999	2016	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>51</sup> <i>Footnote<sup>51</sup></i>
Guideline on influenza vaccines. Non-clinical and clinical module (EMA/CHMP/VWP/457259/2014)	2016	EMA	Сноска <sup>52</sup> <i>Footnote<sup>52</sup></i>
Guidelines on the quality, safety and efficacy of Ebola vaccines, Annex 2, TRS No. 1011	2018	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>53</sup> <i>Footnote<sup>53</sup></i>

<sup>37</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/group-a-meningococcal-conjugate-vaccines-annex-2-trs-no-962>

<sup>38</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/japanese-encephalitis-vaccine-inactivated-annex-1-trs-no-963>

<sup>39</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/trs-979-annex-3-bcg-vax>

<sup>40</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hep-b-A4-trs-978>

<sup>41</sup> [https://www.who.int/publications/m/item/TRS\\_979\\_annex-2-dengue](https://www.who.int/publications/m/item/TRS_979_annex-2-dengue)

<sup>42</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/influenza-attenuated-intranasal-administration-annex-4-trs-no-977>

<sup>43</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/yellow-fever-vaccines-live-attenuated-annex-5-trs-no-978>

<sup>44</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/annex4-trs-980-diphtheria>

<sup>45</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/japanese-encephalitis-vaccines-live-attenuated-annex-7-trs-no-980>

<sup>46</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-malaria-vaccine-annex-3-trs-980>

<sup>47</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/acellular-pertussis-vaccines-annex-4-trs-no-979>

<sup>48</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/oral-live-attenuated-poliomyelitis-vaccine-annex-2-trs-no-980>

<sup>49</sup> [https://www.who.int/publications/m/item/tetanus-vaccines-\(adsorbed\)-annex-5-trs-no-980](https://www.who.int/publications/m/item/tetanus-vaccines-(adsorbed)-annex-5-trs-no-980)

<sup>50</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/poliomyelitis-vaccines-inactivated-annex-3-trs-no-993>

<sup>51</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hpv-like-particle-vaccines-annex-4-trs-no-999>

<sup>52</sup> <https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-non-clinical-clinical-module-scientific-guideline>

<sup>53</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/annex-2-trs1011-ebola>

Продолжение таблицы 2  
Table 2 (continued)

Наименование документа <i>Document title</i>	Год утверждения <i>Year of approval</i>	Регуляторный орган <i>Regulatory authority</i>	Источник <i>Reference</i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis E vaccines, Annex 2, TRS No. 1016	2019	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>54</sup> <i>Footnote<sup>54</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated), Annex 3, TRS No. 1024	2020	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>55</sup> <i>Footnote<sup>55</sup></i>
Guidelines on the quality, safety and efficacy of respiratory syncytial virus vaccines, Annex 2, TRS No. 1024	2020	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>56</sup> <i>Footnote<sup>56</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of typhoid conjugate vaccines, Annex 2, TRS No. 1030	2020	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>57</sup> <i>Footnote<sup>57</sup></i>
Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of enterovirus 71 vaccines (inactivated), Annex 3, TRS No. 1030	2021	ВОЗ <i>WHO</i>	Сноска <sup>58</sup> <i>Footnote<sup>58</sup></i>
Указания по проведению доклинических и клинических исследований вакцин для профилактики гриппа (проект) <i>Guidance on non-clinical and clinical studies of vaccines to prevent influenza (draft)</i>	2022	Совет ЕЭК, ЕАЭС <i>Council of the EEC, EAEU</i>	Сноска <sup>59</sup> <i>Footnote<sup>59</sup></i>

*Примечание.* ЕМА – Европейское агентство по лекарственным средствам; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; ЕЭК – Евразийская экономическая комиссия; ЕАЭС – Евразийский экономический союз.

*Note.* EMA, European Medicines Agency; WHO, World Health Organisation; EEC, Eurasian Economic Commission; EAEU, Eurasian Economic Union.

Первое руководство, регламентирующее проведение оценки качества, эффективности и безопасности вакцины для профилактики оспы, было подготовлено в 2002 г. ЕМА в связи с прогнозируемой в тот период потенциальной вспышкой инфекции<sup>60</sup>. В руководстве указано, что фармакологические и токсикологические свойства вакцины-кандидата необходимо оценить относительно препарата сравнения, представляющего собой оригинальный вакцинный штамм, на основе которого была получена вакцина. Отмечается, что вирус осповакцины способен вызывать иммунный ответ у нескольких видов животных: мышей, кроликов, обезьян.

Исследования токсичности требуется проводить на всех основных этапах производства вакцины и с готовой формой препарата. При этом оценка протективной эффективности проводится только с готовой формой вакцины<sup>61</sup>. Первичной конечной точкой должна быть протективная эффективность вакцины-кандидата в сравнении с оригинальной вакциной при экспериментальном инфицировании патогенным

ортопоксвирусом. Кросс-протективность должна быть показана к двум различным патогенным ортопоксвирусам на двух различных видах млекопитающих. При использовании в качестве модели мышей линии BALB/c первичной конечной точкой будет являться протективность в отношении летальной респираторной инфицирующей дозы ортопоксвируса, например вируса коровьей оспы. При этом вирус-индуцированные симптомы (например, снижение веса тела) будут являться вторичными конечными точками. При использовании обезьян первичной конечной точкой также является протективность в отношении летальной дозы вируса<sup>62</sup>.

Местная репликация вируса может быть исследована на модели мышей при внутрикожном введении вируса в ушную раковину, а также при оценке дозозависимой выживаемости после аэрозольного применения. Способность вакцинного вируса реплицироваться в головном мозге должна быть исследована путем непосредственного введения в мозг, например на неполовозрелых мышах. Репродуктивная токсич-

<sup>54</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hepatitis-e-vaccines-annex-2-trs-1016>

<sup>55</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/poliomyelitis-vaccines-annex-3-trs-no-1024>

<sup>56</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/respiratory-syncytial-virus-vaccines-annex-2-trs-no-1024>

<sup>57</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/tcv71-recommendations>

<sup>58</sup> <https://www.who.int/publications/m/item/ev71-recommendations>

<sup>59</sup> <https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/fdf/Vnesenie-izmeneniy-v-Pravila-provedeniya-issledovaniy-biologicheskikh-lekarstvennykh-sredstv.pdf?ysclid=lesj2d845j550108747>

<sup>60</sup> Note for guidance on the development of vaccinia virus-based vaccines against smallpox (CPMP/1100/02). EMA; 2002. <https://www.ema.europa.eu/en/development-vaccinia-virus-based-vaccines-against-smallpox-scientific-guideline>

<sup>61</sup> Там же.

<sup>62</sup> Там же.

ность может быть исследована на моделях мышей или кроликов при внутрикожном введении вакцины-кандидата и вакцины-сравнения<sup>63</sup>.

В руководстве ВОЗ по инактивированным вакцинам против японского энцефалита регламентируется проведение ДИ иммуногенности<sup>64</sup>. При оценке уровня нейтрализующих антител рекомендовано включение, по крайней мере, одной зарегистрированной вакцины в качестве препарата сравнения. При оценке протективной эффективности вакцины необходимо продемонстрировать защиту иммунизированных животных при заражении штаммом гомологичного вируса (рекомендовано использование вируса генотипа 3). Кроме того, протективная эффективность вакцины может быть оценена при введении иммунных сывороток от вакцинированных животных или человека невакцинированным животным с последующим их заражением. Результаты данных исследований позволяют определить титры нейтрализующих антител, коррелирующих с протективным эффектом вакцины<sup>65</sup>.

В руководстве ВОЗ по оценке качества, безопасности, эффективности вакцины БЦЖ<sup>66</sup> представлены рекомендации по ДИ иммуногенности и безопасности на животных; подробно прописаны методики проведения данных исследований.

В разделе по доклинической оценке новых вакцин против гепатита В руководства ВОЗ<sup>67</sup> регламентируется проведение исследований иммуногенности новых рекомбинантных вакцин на основе HBsAg и ранее зарегистрированных (при внесении изменений в производства). Оценку иммуногенности рекомендуется проводить с использованием кроликов, морских свинок, мышей и, возможно, приматов. При проведении иммунизации величины титров анти-HBsAg антител следует сравнивать между исследуемой вакциной и по крайней мере одним зарегистрированным препаратом сравнения. Если предполагается, что новая вакцина-кандидат будет содержать адъювант, его включение в вакцину необходимо обосновать адекватными данными об иммуногенности, в том числе и результатами оценки клеточного иммунного ответа. Исследования должны

быть сравнительными и включать адъювантную вакцину-кандидат с одним HBsAg и/или вакцину с HBsAg в сочетании с хорошо зарекомендовавшим себя адъювантом (например, на основе соединений алюминия). При включении в состав вакцины нового адъюванта должны быть проведены его доклинические токсикологические исследования. Если для производства вакцины против гепатита В используется новый клеточный субстрат, то необходимо изучить соответствующие аспекты безопасности, такие как потенциальный иммунный ответ на остаточные белки клетки-хозяина. Изменения в способе введения или составе вакцины против гепатита В требуют оценки иммуногенности и проведения адекватных исследований безопасности на животных<sup>68</sup>.

Раздел руководства ВОЗ по ДИ вакцины для профилактики лихорадки денге<sup>69</sup> содержит рекомендации по оценке живой ослабленной тетравалентной вакцины. В документе регламентируется проведение исследований по оценке стабильности показателей специфической активности (квалификация штамма) уже на этапе производственного процесса. При этом необходимо продемонстрировать (используя доступные подходы *in vivo* и *in vitro*) генетическую стабильность ослабленного вакцинного вируса, чтобы снизить потенциальный риск возврата к вирулентной форме на этапе производства вакцины, либо на следующих этапах. Для оценки иммуногенности и протективной эффективности (с заражением диким штаммом) рекомендуется использовать нечеловекообразных приматов. При этом необходимо оценить иммунный ответ или протективную активность каждого из четырех серотипов в тетравалентной вакцине. При изучении безопасности вакцины следует контролировать возможное развитие побочных реакций, связанных с дозой вакцины, а также с репликацией вакцинного вируса и тканевого тропизма. Кроме того, живые вакцины против лихорадки денге должны быть проверены на нейровирулентность. Рекомендуемой моделью для оценки нейровирулентности вакцины являются нечеловекообразные приматы; также может быть рассмотрена модель грызунов (в соответствии с рекомендациям

<sup>63</sup> Там же.

<sup>64</sup> Recommendations for Japanese encephalitis vaccine (inactivated) for human use, Annex 1, TRS No. 963. <https://www.who.int/publications/m/item/japanese-encephalitis-vaccine-inactivated-annex-1-trs-no-963>

<sup>65</sup> Там же.

<sup>66</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of BCG vaccines, Annex 3, TRS No. 979. <https://www.who.int/publications/m/item/trs-979-annex-3-bcg-vax>

<sup>67</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant Hepatitis B vaccines, Annex 4, TRS No. 978. <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hep-b-A4-trs-978>

<sup>68</sup> Там же.

<sup>69</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of dengue tetraivalent vaccines (live, attenuated), Annex 2, TRS No. 979. [https://www.who.int/publications/m/item/TRS\\_979\\_annex-2-dengue](https://www.who.int/publications/m/item/TRS_979_annex-2-dengue)

ВОЗ по тестированию нейровирулентности вакцин против желтой лихорадки<sup>70</sup>) [7].

После начала разработки первых назальных вакцин ВОЗ было подготовлено руководство для оценки качества, эффективности и безопасности интраназальных живых аттенуированных вакцин против гриппа. Устройство введения может влиять на доставку вакцины к соответствующим отделам ЛОР-органов, ее безопасность и эффективность, поэтому доклинические исследования таких вакцин должны включать тщательную оценку пригодности устройства для интраназальной доставки и подтверждения безопасности и эффективности вакцины.

ДИ гриппозной вакцины в соответствии с рекомендациями руководства ВОЗ по оценке качества, эффективности и безопасности интраназальных живых аттенуированных вакцин против гриппа<sup>71</sup> включает характеристику типа иммунного ответа: частоту и продолжительность иммунных реакций, особенности праймирования и бустирования, защитную эффективность, определяемые в исследованиях на животных. Необходимо провести исследования по выявлению маркеров аттенуации, которые можно использовать для контроля результатов на этапах клинической оценки. Первичные исследования по оценке аттенуации могут быть проведены на ряде чувствительных к вирусу гриппа видов, таких как хорьки, мыши и нечеловекообразные приматы, чтобы установить взаимосвязь конкретных генетических признаков с фенотипом аттенуации. Для оценки иммуногенности вакцины необходимо провести определение уровня антител против гемагглютининов. Протективную эффективность оценивают непосредственно после иммунизации животных путем инфекционного заражения диким штаммом или лабораторными штаммами вирусов гриппа<sup>72</sup>.

Согласно требованиям руководства ВОЗ по оценке вакцин для профилактики желтой лихорадки новый вакцинный кандидат штамма 17D должен быть охарактеризован по параме-

трам иммуногенности и безопасности в сравнении, по крайней мере, с одним штаммом, используемым в настоящее время для производства зарегистрированной вакцины<sup>73</sup>. ДИ должны показать, что новая вакцина-кандидат индуцирует нейтрализующие антитела к вирусу желтой лихорадки у мышей и нечеловекообразных приматов. Особенностью ДИ токсичности данной вакцины является обязательная оценка нейротропизма и висцеротропизма на модели обезьян с использованием вакцины на основе штамма 17D в качестве препарата сравнения<sup>74</sup>.

В Руководстве ВОЗ по оценке дифтерийных вакцин<sup>75</sup> представлены рекомендации, относящиеся к вакцинам на основе химически детоксцированного дифтерийного токсина, адсорбированного на адьюванте на основе соединений алюминия. При проведении исследований необходимо продемонстрировать обеспечение полной и необратимой детоксикации дифтерийного токсина, оценить специфическую токсичность и вероятность реверсии токсичности. Потенциальные токсические эффекты вакцины должны быть оценены как минимум на одном виде животных с гистологической оценкой патологических изменений органов и тканей. Исследование иммуногенности должно включать оценку уровня нейтрализующих токсин антител в образцах сыворотки вакцинированных животных. Оценка иммуногенной активности вакцины на модели морских свинок или мышей должна проводиться путем сравнения с эталонной вакциной<sup>76</sup>.

Раздел руководства ВОЗ по ДИ живых аттенуированных вакцин против японского энцефалита содержит рекомендации по оценке иммуногенности вакцин на мышах и нечеловекообразных приматах<sup>77</sup>. Эффективность вакцин оценивается по способности стимулировать формирование вирус-специфических CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток и секрецию провоспалительных цитокинов, повышать уровень интерлейкинов 4 и 5, что предопределяет повышение выживаемости иммунизированных животных при их последующем

<sup>70</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of live attenuated yellow fever vaccines, Annex 5, TRS No. 978. <https://www.who.int/publications/m/item/yellow-fever-vaccines-live-attenuated-annex-5-trs-no-978>

<sup>71</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of influenza vaccines (human, live attenuated) for intranasal administration, Annex 4, TRS No. 977. <https://www.who.int/publications/m/item/influenza-attenuated-intranasal-administration-annex-4-trs-no-977>

<sup>72</sup> Там же.

<sup>73</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of live attenuated yellow fever vaccines, Annex 5, TRS No. 978. <https://www.who.int/publications/m/item/yellow-fever-vaccines-live-attenuated-annex-5-trs-no-978>

<sup>74</sup> Там же.

<sup>75</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of diphtheria vaccines (adsorbed), Annex 4, TRS No. 980. <https://www.who.int/publications/m/item/annex4-trs-980-diphtheria>

<sup>76</sup> Там же.

<sup>77</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of Japanese encephalitis vaccines (live, attenuated) for human use, Annex 7, TRS No. 980. <https://www.who.int/publications/m/item/japanese-encephalitis-vaccines-live-attenuated-annex-7-trs-no-980>

заражении вирусом. Протективная эффективность вакцины определяется в реакции нейтрализации против штамма вируса SA14-14-2 или химерного вируса японского энцефалита. При ДИ безопасности живых аттенуированных вакцин необходимо оценить репликацию вакцинного вируса у животного, восприимчивого к заражению вирусом, так как с этим связан уровень токсических эффектов. В экспериментах на мышах оценивается значение титра вируса в крови, головном мозге и других тканях в разные сроки после заражения, и в случае отсутствия репликации вируса у мышей следует рассмотреть возможность тестирования на обезьянах. Для характеристики штамма-кандидата вакцины рекомендуется изучение нейровирулентности на мышах и нечеловекообразных приматах и оценка возможности реверсии нейровирулентных свойств у восприимчивых мышей<sup>78</sup>.

В руководстве ВОЗ по противомаларийным вакцинам<sup>79</sup> в разделе по ДИ указано на целесообразность проведения исследования иммуногенности на животных моделях для оптимизации состава адъюванта и оценки иммунологических характеристик антигенов вакцины, включая способность индуцировать функциональные антитела. Использование грызунов в качестве животной модели ограничено, так как они не являются естественными хозяевами для паразитов человека и их иммунный ответ на малярийные антигены может быть нерелевантным течению инфекции у человека. Тем не менее отсутствие протективности в таких моделях указывает на то, что исследуемую вакцину-кандидат не следует допускать до клинических исследований. Восприимчивость приматов к малярии человека, хотя и в модифицированных формах, является главным преимуществом перед другими животными моделями. Возможные модели приматов подробно охарактеризованы в руководстве ВОЗ для оценки качества, безопасности и эффективности противомаларийных вакцин<sup>80</sup>.

В руководстве ВОЗ по оценке бесклеточных коклюшных вакцин<sup>81</sup> подробно описаны известные антигены вакцин и представлены модели и методы для их характеристики. Для вакцин, содержащих химически или генетически

инактивированный токсин коклюша, требуется тщательная оценка остаточной активности токсина коклюша и, при необходимости, возможной реверсии токсичности во время хранения. Учитывая, что в настоящее время не существует бесклеточных коклюшных моновакцин, следует проводить исследование протективной эффективности с использованием конечной лекарственной формы (лекарственной формы, включающей дифтерийный и столбнячный анатоксины и другие компоненты). В случае разработки нового состава вакцин необходимо проводить доклиническую оценку способности бесклеточной коклюшной вакцины защищать от заражения *B. pertussis* на модели мышей. Согласно руководству ВОЗ<sup>82</sup> доклинические испытания могут не потребоваться в случае, если в вакцине присутствуют такие же коклюшные антигены (того же производителя и при использовании той же технологии), как и в вакцинах, которые уже зарегистрированы на основании оценки их безопасности и эффективности.

При проведении ДИ противостолбнячных вакцин согласно рекомендациям руководства ВОЗ<sup>83</sup> требуется проведение исследований для подтверждения отсутствия специфической токсичности и реверсии токсичности. Потенциальные токсические эффекты очищенного инактивированного анатоксина должны быть изучены, по крайней мере, на одном виде животных, включая проведение патогистологического исследования основных органов, оценку местных воспалительных реакций и системной токсичности на иммунную систему. Используемые виды животных должны быть чувствительны к биологическим эффектам вакцины и токсина. Исследования иммуногенности и/или эффективности вакцины могут проводиться с использованием более одной модели животных. Оценка эффективности вакцины должна проводиться с учетом нескольких разведений (по крайней мере, трех разведений каждой тестируемой вакцины и подходящего эталонного препарата) на модели морских свинок или мышей с последующим контрольным заражением столбнячным токсином или путем титрования образцов иммунной сыворотки

<sup>78</sup> Там же.

<sup>79</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of recombinant malaria vaccines targeting the pre-erythrocytic and blood stages of *Plasmodium falciparum*, Annex 3, TRS No. 980. <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-malaria-vaccine-annex-3-trs-980>

<sup>80</sup> Там же.

<sup>81</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines, Annex 4, TRS No. 979. <https://www.who.int/publications/m/item/acellular-pertussis-vaccines-annex-4-trs-no-979>

<sup>82</sup> Там же.

<sup>83</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of tetanus vaccines (adsorbed), Annex 5, TRS No. 980. <https://www.who.int/publications/m/item/oral-live-attenuated-poliomyelitis-vaccine-annex-2-trs-no-980>

для определения функционально активных (токсин-нейтрализующих) антител<sup>84</sup>.

В руководстве ВОЗ по инактивированным полиомиелитным вакцинам<sup>85</sup> регламентируется проведение исследования иммуногенности на подходящих животных моделях (например, на крысах), включающего кандидатную и зарегистрированную вакцину, с оценкой по уровню титров типоспецифических сывороточных нейтрализующих антител как против штаммов Сэбина, так и штаммов вируса дикого типа. На основании результатов этих исследований возможен выбор количественного содержания D-антигена в вакцине для проведения последующих исследований по определению дозы на людях. Однако важно отметить, что данные об иммуногенности на животных не позволяют надежно определить содержание антигена, которое бы соответствовало однократной дозе для человека. Исследование с использованием трансгенных мышей может быть выполнено для сравнения индуцированного иммунного ответа и степени защиты при иммунизации вакциной-кандидатом и зарегистрированной вакциной от последующего заражения вирулентной дозой вируса<sup>86</sup>.

Руководство ВОЗ по оценке качества, безопасности и эффективности рекомбинантных вакцин против вируса папилломы человека (ВПЧ) содержит рекомендации по новой вакцине на основе вирусоподобных частиц (virus-like particle, VLP) – вакцине L1 VLP против ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов<sup>87</sup>. Следует отметить, что адекватной и подходящей животной модели инфекции ВПЧ не существует, поскольку папилломавирусы являются видоспецифичными. В руководстве ВОЗ указано на целесообразность оценки фармакодинамических свойств вакцины на основе L1 VLP с помощью исследований иммуногенности (например, на грызунах, кроликах и/или, возможно, на приматах). При этом необходимо провести характеристику сывороточных нейтрализующих антител, индуцированных против каждого из типов ВПЧ L1 VLP, включенных в вакцину, и сывороточных перекрестно-нейтрализующих антител к широкому спектру типов ВПЧ. Поскольку целевой группой для вакцин против ВПЧ являются жен-

щины детородного возраста, требуется проведение исследований по оценке репродуктивной и онтогенетической токсичности<sup>88</sup>.

Пандемия гриппа 2009–2010 гг. инициировала разработку ЕМА нормативных требований, регламентирующих оценку качества, эффективности и безопасности вакцин для профилактики гриппа<sup>89</sup>. Раздел руководства ЕМА по ДИ содержит рекомендации по оценке иммуногенности вакцин с использованием мелких видов экспериментальных животных, наиболее чувствительных в отношении вакцин против вируса гриппа (например, крысы, хомяки, морские свинки, мыши и хорьки)<sup>90</sup>. При этом необходимо оценить гуморальный и клеточный иммунный ответ, а также зависимость эффекта от дозы. Для пандемических, препандемических (зоонозных) и сезонных вакцин с адъювантом следует провести исследование кросс-нейтрализующих эффектов в отношении гетерологичных штаммов вирусов гриппа. Оценка протективных свойств гриппозных вакцин с новым механизмом действия рекомендуется проводить на релевантной модели животных.

Наиболее адекватной моделью для исследования защитных свойств вакцин для профилактики гриппа (при условии, что исследуемый штамм вируса гриппа хорошо реплицируется и вызывает симптоматическую инфекцию) являются хорьки, поскольку патогенез заболевания, клиническая симптоматика, включая лихорадку, и механизмы формирования иммунитета схожи с таковыми у человека; кроме того, хорьки обладают наиболее высокой восприимчивостью к заражению вирулентными штаммами вируса гриппа; оценка протективности на мышах нецелесообразна. Изучение токсичности вакцины при однократном введении предпочтительно проводить в рамках изучения токсичности при многократном введении. Исследование иммуногенности вакцин с адъювантом на доклиническом этапе включает оценку оптимального соотношения адъювант/антиген путем исследования эффекта комбинации различных доз адъюванта с различными дозами антигена вакцины<sup>91</sup>. Руководство ЕМА по доклиническим

<sup>84</sup> Там же.

<sup>85</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated), Annex 3, TRS No. 993. <https://www.who.int/publications/m/item/poliomyelitis-vaccines-inactivated-annex-3-trs-no-993>

<sup>86</sup> Там же.

<sup>87</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant human papillomavirus virus-like particle vaccines, Annex 4, TRS No. 999. <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hpv-like-particle-vaccines-annex-4-trs-no-999>

<sup>88</sup> Там же.

<sup>89</sup> Guideline on influenza vaccines. Non-clinical and clinical module. <https://www.ema.europa.eu/en/influenza-vaccines-non-clinical-clinical-module-scientific-guideline>

<sup>90</sup> Там же.

<sup>91</sup> Там же.

и клиническим исследованиям вакцин для профилактики гриппа взято за основу для подготовки аналогичного руководства ЕАЭС.

В соответствии с требованиями руководства ВОЗ по оценке качества, безопасности и эффективности вакцин против лихорадки Эбола рекомендуется проведение исследования механизма иммунной защиты вакцин с использованием грызунов (мыши, морские свинки) и нечеловекообразных приматов (макаки-крабоеды или макаки-резусы)<sup>92</sup>. Для исследования протективной эффективности вакцин необходимо использование лабораторий с уровнем биологической безопасности BSL-4. Эти исследования имеют более высокую прогностическую ценность, чем исследования иммуногенности для прогнозирования эффективности вакцин у людей. Для оценки доконтактной профилактики животных обычно заражают в то время, когда развился пиковый уровень реакции на вакцину (например, максимальный титр антител). С целью определения различных стратегий вакцинации желательно получить информацию, оценивая результаты при заражении животных до пика развития иммунного ответа или при его снижении.

Следует провести исследование иммунного ответа на каждый из штаммов вируса Эбола в поливалентной вакцине, включая оценку любой потенциальной иммунологической интерференции между штаммами. Данные о перекрестно-нейтрализующих антителах и перекрестной реактивности должны быть получены для моновалентных и поливалентных вакцин путем использования гетерологичных вирусов.

При изучении иммуногенности вакцин следует оценивать гуморальный и клеточный иммунный ответ, формирующийся на каждый из предполагаемых защитных антигенов и антигенов используемого вектора. Оценка клеточного иммунитета должна включать фенотипическую и функциональную характеристику ответов CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-клеток с использованием чувствительных и высокоспецифичных тестов, таких как ELISPOT (enzyme linked immunosorbent spot assay) и ICS (intracellular cytokine staining assay), с помощью многопараметрической проточной цитометрии. В зависимости от свойств вакцин-кандидатов могут потребоваться дополнительные испытания на безопасность. Для реплицирующегося рекомбинантного вакцинного вектора с нейро-

вирулентным потенциалом необходима оценка нейровирулентности на релевантных видах животных. Если в вакцине используется рекомбинантный вирусный вектор, то необходимо проведение исследования биораспределения<sup>93</sup>.

В руководстве ВОЗ по вакцинам против гепатита Е регламентируется проведение исследований иммуногенности с использованием релевантных видов животных, реагирующих на антиген<sup>94</sup>. Оценка иммуногенности вакцины должна включать определение сывороточных антител класса IgG к вирусу гепатита Е (HEV). Защитный эффект вакцины следует также исследовать на релевантной модели животных. Примеры моделей животных, для которых экспериментально показано инфицирование HEV человека, включают свиней (генотипы 3 и 4), кроликов (генотип 4) и различные виды нечеловекообразных приматов, такие как яванские макаки (генотипы 1 и 2) и макаки-резусы (генотипы 1–4). Используемые животные должны быть HEV-наивными. Вирус, используемый для исследований с контрольным заражением животных, должен соответствовать штамму вируса дикого типа, из которого получен вакцинный антиген. Исследования пассивной иммунизации на животных моделях, включающие перенос антисыворотки от вакцинированных людей наивным животным с последующим заражением HEV, могут быть полезны для оценки титра специфических антител класса IgG, связанных с защитой.

Согласно рекомендациям руководства ВОЗ по вакцинам против респираторно-синцитиального вируса (RSV)<sup>95</sup> при исследовании иммуногенности следует уделить внимание выбору подтипа RSV (A или B), а также типу клеток, которые будут использоваться для оценки нейтрализующих антител. Дизайн ДИ зависит от механизма действия вакцины. Вакцины-кандидаты могут быть разработаны для стимуляции клеточного иммунитета. Для других вакцин предполагаемым механизмом защитного действия может быть индукция эффективного иммунного ответа слизистой оболочки, например для вакцин, вводимых интраназальным путем. Это касается некоторых живых аттенуированных или векторных вакцин.

Для мультивалентной вакцины-кандидата необходимо оценить иммунный ответ на каждый из вакцинных антигенов-мишеней. В случае живых вирусных векторных вакцин следует

<sup>92</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of Ebola vaccines, Annex 2, TRS No. 1011. <https://www.who.int/publications/m/item/annex-2-trs1011-ebola>

<sup>93</sup> Там же.

<sup>94</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant Hepatitis E vaccines, Annex 2, TRS No. 1016. <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-hepatitis-e-vaccines-annex-2-trs-1016>

<sup>95</sup> Guidelines on the quality, safety and efficacy of respiratory syncytial virus vaccines, Annex 2, TRS No. 1024. <https://www.who.int/publications/m/item/respiratory-syncytial-virus-vaccines-annex-2-trs-no-1024>

проводить исследование биораспределения (если оно ранее не проводилось) во всех тканях и органах, включая головной мозг. В руководстве ВОЗ рекомендуется исследование вакцин-индуцированных иммунных реакций и связанного с вакциной риска ADE-эффекта на моделях животных (мыши, хлопковые крысы, африканские зеленые мартышки, яванские макаки, телята). Необходимость оценки ADE-эффекта определяется типом вакцины против RSV и/или целевой группой населения и должна рассматриваться в каждом конкретном случае. Например, для вакцин-кандидатов с иммунологическими характеристиками, аналогичными формалинизированной вакцине против RSV (FI-RSV), и разработанных для активной иммунизации младенцев, ранее не инфицированных RSV, предварительная оценка риска ADE-эффекта имеет решающее значение<sup>96</sup>.

В руководстве ВОЗ по оценке качества, безопасности, эффективности брюшнотифозных конъюгированных вакцин<sup>97</sup> представлены рекомендации по исследованию иммуногенности, которая может сильно различаться у разных видов животных. Указано, что исследования на животных следует проводить только в том случае, если они позволяют получить информацию, свидетельствующую о протективной эффективности вакцин. Уровень регистрируемых антител класса IgG к Vi-полисахариду при исследовании иммуногенности вакцины на используемой модели животных должен значительно превышать уровень иммунного ответа в контрольной группе животных, например в группе животных, которые получают неконъюгированную Vi-полисахаридную вакцину.

ДИ иммуногенности могут включать оценку частоты сероконверсии и/или средних геометрических значений титров антител. Рекомендуется проводить изучение функциональных характеристик иммунного ответа, например оценку уровня сывороточных бактерицидных антител, антителозависимой фагоцитарной активности и опсонофагоцитарной активности. В исследовании иммуногенности следует включать оценку интерференции, которая может возникать между антигенами при использовании полиантигенных вакцин; в таких случаях следует оценивать иммунную реакцию на каждый антиген.

Согласно рекомендациям руководства ВОЗ по вакцинам для профилактики энтеровируса 71 типа (EV71)<sup>98</sup> иммуногенность новой вакцины необходимо исследовать на соответствующих моделях животных (например, мыши, крысы или кролики) с оценкой уровня нейтрализующих антител в сыворотке крови против изолированных штаммов вируса или псевдовирюсов при использовании разных доз препарата. Иммунный ответ на вакцину-кандидат следует оценивать после введения каждой дозы вакцины и, по возможности, в сравнении с зарегистрированной вакциной против EV71 в качестве контроля. В процессе оценки иммуногенности рекомендуется проводить характеристику перекрестно-нейтрализующих антител с использованием изолированных гетерологичных вирусов или псевдовирюсов различных субгеногрупп. Эти данные могут служить ориентиром при выборе уровня доз, режима дозирования и пути введения в клинических исследованиях. В связи с ограниченным на настоящее время объемом клинических данных по перекрестной эффективности для ее подтверждения необходимо предоставлять соответствующие данные, полученные в исследованиях на животных. Следует проводить исследование защитной эффективности вакцин на соответствующих моделях животных для оценки защитного потенциала в отношении гетерологичных вирусов различных геногрупп, поскольку результаты таких исследований позволят охарактеризовать широту защиты вакцины от энтеровирусов<sup>99</sup>.

### Особенности требований к проведению доклинических исследований вакцин регуляторных органов разных стран

В настоящее время нормативные рекомендации для проведения ДИ вакцин в большинстве стран мира гармонизированы с рекомендациями ЕМА, FDA и ВОЗ. В то же время в ряде стран по некоторым вопросам ДИ приняты собственные подходы, которые отличаются от рекомендаций ВОЗ, ЕМА, регуляторных органов Японии и Китая.

В частности, в Индии разработка и регистрация вакцин регламентируется Законом о лекарствах и косметике<sup>100</sup> и ДИ осуществляются на основе единых требований для всех лекар-

<sup>96</sup> Там же.

<sup>97</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of typhoid conjugate vaccines, Annex 2, TRS No. 1030. <https://www.who.int/publications/m/item/tcv71-recommendations>

<sup>98</sup> Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of enterovirus 71 vaccines (inactivated), Annex 3, TRS No. 1030. <https://www.who.int/publications/m/item/ev71-recommendations>

<sup>99</sup> Там же.

<sup>100</sup> Government of India, Ministry of Health and Family Welfare (Department of Health). The drugs and cosmetics act and rules. The drugs and cosmetics act, 1940. The drugs and cosmetics rules, 1945 (As amended up to 31 December, 2016). [https://cdsco.gov.in/opencms/export/sites/CDSCO\\_WEB/Pdf-documents/acts\\_rules/2016DrugsandCosmeticsAct1940Rules1945.pdf](https://cdsco.gov.in/opencms/export/sites/CDSCO_WEB/Pdf-documents/acts_rules/2016DrugsandCosmeticsAct1940Rules1945.pdf)



ственных средств. Доклиническая оценка токсичности вакцин согласно этому документу является наиболее обширной и сложной в сравнении с общепринятыми программами, прописанными в рекомендациях других регуляторных органов. Согласно требованиям индийского руководства необходимо проведение исследований на двух видах животных с использованием двух путей введения (например, внутримышечного и подкожного); при этом требуется введение широкого диапазона доз и определение максимально переносимой дозы. ДИ иммуногенности обычно проводятся более чем на одном виде, что позволяет оценить видоспецифические особенности токсичности.

В Японии при подаче заявки на регистрацию или проведение клинических исследований вакцин, которые уже зарегистрированы в других странах, требуется представление подробных обзоров любых имеющихся данных об исследовании на животных<sup>101</sup>. Если эта информация будет сочтена недостаточной, может быть сделан запрос на проведение рутинных ДИ токсичности до начала клинических исследований и/или подачи заявки на регистрацию.

Кроме того, в большинстве руководств указано, что проведение исследований фармакологической безопасности необходимо только в том случае, если данные доклинических или клинических исследований предполагают, что вакцина может влиять на основные физиологические параметры центральной нервной системы, дыхательной системы, сердечно-сосудистой системы, почек. Исключение составляет японское руководство, в котором указано, что необходимость исследования фармакологической безопасности требуется для всех вакцин (новых и ранее выпущенных на рынок)<sup>102</sup>. Тем не менее в этом руководстве указано, что отдельное исследование фармакологической безопасности вакцин может быть сокращено или исключено, если в исследование токсичности с введением повторных доз были включены конкретные конечные точки, позволяющие оценить безопасность вакцины. Хотя дизайн фармакологических исследований безопасности вакцин следует рассматривать отдельно в каждом конкретном

случае, общее описание дизайна этих исследований представлено в руководстве ICH S7A<sup>103</sup>.

### «Правило животных»

Отдельно следует выделить подход, принятый в США, который позволяет проводить регистрацию препарата без представления результатов клинических исследований на основании документа, разработанного FDA, который известен под названием «Правило животных» (Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных – Animal Rule, CFR 314, подраздел I или CFR 601, подраздел H)<sup>104</sup>. Данный документ разработан для регистрации профилактических и терапевтических препаратов в случае, если проведение исследований на человеке невозможно по этическим или иным причинам. Согласно «Правилу животных» возможна регистрация препаратов, предназначенных для профилактики и лечения серьезных или опасных для жизни состояний (заболеваний), вызванных действием летальных (или приводящих к тяжелым последствиям) токсичных веществ биологической, химической или радиологической природы.

Указанный нормативный акт применяется только к тем новым лекарственным препаратам, для которых окончательные исследования эффективности на людях не могут быть проведены, поскольку было бы неэтично преднамеренно подвергать здоровых добровольцев потенциально летальным или приводящим к необратимым нарушениям воздействиям. Данный документ не распространяется на препараты, которые могут быть зарегистрированы на основе других рекомендаций FDA (например, ускоренное одобрение на основе суррогатных маркеров или клинических конечных точек, основанных не на выживаемости или развитии необратимых нарушений).

На основании «Правила животных» возможна регистрация вакцин. Для этого в первую очередь важно наличие релевантной модели для обоснования протективной эффективности (защиты) и безопасности (токсичности) вакцины (и адьюванта). В дополнение к обязательным исследованиям эффективности и безопасности

<sup>101</sup> Ministry of Health, Labour and Welfare. PSEHB/PED Notification No.0527-1 Guidelines for non-clinical studies of vaccines for preventing infectious diseases (in Japanese); 2010.

<sup>102</sup> Там же.

<sup>103</sup> ICH Guideline. Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals S7A. [https://database.ich.org/sites/default/files/S7A\\_Guideline.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf)

<sup>104</sup> Approval of biological products when human efficacy studies are not ethical or feasible. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-D/part-314/subpart-I>  
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=601&showFR=1&subpartNo=21:70.1.1.2.8>  
<https://www.fda.gov/emergency-preparedness-and-response/mcm-regulatory-science/animal-rule-summary>

на животных (возможно на двух видах) также необходимо проведение клинических исследований иммуногенности/безопасности I, II и III фаз. Соответственно, в некоторых случаях регистрация вакцины на основании данного положения может быть более длительной и дорогостоящей в сравнении с регистрацией по обычной процедуре.

В настоящее время еще не зарегистрирована ни одна вакцина на основании «Правил животных», но FDA одобрило такие препараты, как пиридоциклон бромид (для профилактики летальных последствий отравления нервно-паралитическим агентом зоман), Суапokit (гидроксокобаламин, для лечения известного или предполагаемого отравления цианидами), левакин (левофлоксацин, антибиотик для лечения легочной чумы), моноклональное антитело раксобакумаб (для лечения ингаляционной формы сибирской язвы) и др. Предполагается, что на основе данного нормативного акта могут быть зарегистрированы вакцины для профилактики сибирской язвы, чумы, туляремии, оспы, ботулизма, вирусного энцефалита, пандемического гриппа и др. [8].

## Заключение

Проведенный анализ нормативных документов показал, что начиная с 2000-х годов ВОЗ и ведущими мировыми регуляторными органами было подготовлено более 40 документов, в которых регламентированы те или иные стороны проведения доклинических исследований эффективности и безопасности вакцин. Подавляющее большинство рекомендаций подготовлено ВОЗ. В указанных руководствах представлены рекомендации для проведения доклинических исследований, которые можно разделить на две группы. К первой группе относятся документы, посвященные общим вопросам доклинических исследований вакцин, исследований ДНК-вакцин, комплексных вакцин, адъювантов вакцин и др. Вторая группа документов включа-

ет руководства для оценки качества, эффективности и безопасности конкретных видов вакцин.

В целом, учитывая разнообразие антигенов, состава вакцин, адъювантов и механизмов действия, программы доклинических исследований вакцин обычно включают исследования *in vitro* и *ex vivo*, а также исследования *in vivo* на одном или нескольких видах животных. Как правило, программа исследования безопасности (токсичности) вакцин практически одинакова для всех видов вакцин (в соответствии с Руководством ВОЗ по доклинической оценке вакцин), однако для некоторых вакцин требуется оценка нейровирулентности. Особенностью исследования безопасности для некоторых вакцин является оценка токсичности на этапах производственного процесса получения препарата (например, на этапе детоксикации дифтерийной вакцины).

Доклиническая оценка эффективности индивидуальна для каждого вакцинного препарата. Основной проблемой при разработке любой программы ДИ является выбор релевантных видов животных, у которых иммунные ответы на целевые антигены будут максимально схожими с таковыми у человека. Для большинства вакцин отсутствуют релевантные модели инфекционного процесса для оценки протективной эффективности вакцины и обоснованные корреляты защиты. Исследования протективной эффективности рекомендуется проводить при заражении живыми штаммами возбудителя, чаще дикого типа.

В последних рекомендациях, подготовленных ВОЗ для конкретных видов вакцин, представлены разделы, касающиеся выбора релевантных моделей для оценки эффективности вакцин, описаны особенности проведения доклинических исследований каждой вакцины, такие как оценка нейровирулентности, оценка кросс-реактивности и др. Необходимость проведения дополнительных или специальных исследований вакцин определяется в каждом конкретном случае.

## Литература/References

1. Stratton K, Ford A, Rusch E, Clayton EW, eds. Committee to Review Adverse Effects of Vaccines, Institute of Medicine. *Adverse Effects of Vaccines: Evidence and Causality*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
2. Siegrist CA. Section 1: General aspects of vaccination. Vaccine immunology. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines*. New York: Elsevier Health Sciences; 2008. P. 17–36.
3. Солдатов АА, Горенков ДВ, Меркулов ВА, Бондарев ВП. Особенности и проблемы регистрации и применения препаратов для профилактики COVID-19 в период пандемии. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(4):361–81. Soldatov AA, Gorenkov DV, Merkulov VA, Bondarev VP. Aspects and issues of marketing authorization and use of medicinal products for COVID-19 prevention during the pandemic. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(4):361–81 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-4-361-381>
4. Sheets RL, Stein J, Bailer RT, Koup RA, Andrews C, Naason M, et al. Biodistribution and toxicological safety

- of adenovirus type 5 and type 35 vectored vaccines against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1), Ebola, or Marburg are similar despite differing adenovirus serotype vector, manufacturer's construct, or gene inserts. *J Immunotoxicol.* 2008;5(3):315–35. <https://doi.org/10.1080/15376510802312464>
5. Tebas P, Roberts CC, Muthumani K, Reuschel EL, Kudchodkar SB, Zaidi FI, et al. Safety and immunogenicity of an anti-Zika virus DNA vaccine. *N Engl J Med.* 2021;385(12):e35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1708120>
  6. Sheets RL, Stein J, Manetz TS, Duffy C, Nason M, Andrews C, et al. Biodistribution of DNA plasmid vaccines against HIV-1, Ebola, Severe Acute Respiratory Syndrome, or West Nile virus is similar, without integration, despite differing plasmid backbones or gene inserts. *Toxicol Sci.* 2006;91(2):610–9. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj169>
  7. Levenbook IS, Pelleu LJ, Elisberg BL. The monkey safety test for neurovirulence of yellow fever vaccines: the utility of quantitative clinical evaluation and histological examination. *J Biol Stand.* 1987;15(4):305–13. [https://doi.org/10.1016/s0092-1157\(87\)80003-3](https://doi.org/10.1016/s0092-1157(87)80003-3)
  8. Snoy PJ. Establishing efficacy of human products using animals: the US food and drug administration's "animal rule". *Vet Pathol.* 2010;47(5):774–8. <https://doi.org/10.1177/0300985810372506>

**Вклад авторов.** Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Д.В. Горенков** – обработка и анализ данных литературы, редактирование текста рукописи; **Е.И. Комаровская** и **Ж.И. Авдеева** – критическое обсуждение и редактирование текста рукописи; **А.А. Солдатов** – концепция работы, написание текста рукописи; **В.П. Бондарев** – критическое обсуждение текста рукописи, окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00052-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

**Конфликт интересов.** В.П. Бондарев является заместителем главного редактора, Ж.И. Авдеева – членом редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение». Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **D.V. Gorenkov** reviewed and analysed literature data, and edited the manuscript. **E.I. Komarovskaya** and **Zh.I. Avdeeva** participated in the critical discussion and editing of the manuscript. **A.A. Soldatov** conceptualised the study and drafted the manuscript. **V.P. Bondarev** participated in the critical discussion of the manuscript and approved the final version for publication.

**Acknowledgments.** The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00052-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

**Conflict of interest.** V.P. Bondarev is the Deputy Editor-in-Chief, and Zh.I. Avdeeva is a member of the Editorial Board of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. The other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## Об авторах / Authors

**Горенков Дмитрий Витальевич.**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0940-8080>  
[gorenkov@expmed.ru](mailto:gorenkov@expmed.ru)

**Комаровская Елена Игоревна.**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9035-6072>  
[komarovskaya@expmed.ru](mailto:komarovskaya@expmed.ru)

**Солдатов Александр Алексеевич, д-р мед. наук.**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6624-2692>  
[Soldatov@expmed.ru](mailto:Soldatov@expmed.ru)

**Авдеева Жанна Ильдаровна, д-р мед. наук, проф.**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9377-1378>  
[avdeeva@expmed.ru](mailto:avdeeva@expmed.ru)

**Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, проф.**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>  
[Bondarev@expmed.ru](mailto:Bondarev@expmed.ru)

Поступила 06.02.2023

После доработки 07.03.2023

Принята к публикации 13.03.2023

**Dmitry V. Gorenkov.**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0940-8080>  
[gorenkov@expmed.ru](mailto:gorenkov@expmed.ru)

**Elena I. Komarovskaya.**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9035-6072>  
[komarovskaya@expmed.ru](mailto:komarovskaya@expmed.ru)

**Aleksandr A. Soldatov, Dr. Sci. (Med.).**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6624-2692>  
[Soldatov@expmed.ru](mailto:Soldatov@expmed.ru)

**Zhanna I. Avdeeva, Dr. Sci. (Med.), Professor.**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9377-1378>  
[avdeeva@expmed.ru](mailto:avdeeva@expmed.ru)

**Vladimir P. Bondarev, Dr. Sci. (Med.), Professor.**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>  
[Bondarev@expmed.ru](mailto:Bondarev@expmed.ru)

Received 6 February 2023

Revised 7 March 2023

Accepted 13 March 2023