



НАСТАНОВА

СТ-Н МОЗУ 42–6.2:2021

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ

ДОКЛІНІЧНА ОЦІНКА ВАКЦИН

Видання офіційне

Київ
Міністерство охорони здоров'я України
2021

ПЕРЕДМОВА

- 1 РОЗРОБЛЕНО: Державне підприємство «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України»

ПЕРЕКЛАД І НАУКОВО-ТЕХНІЧНЕ РЕДАГУВАННЯ: **М. Бабенко**, канд. фарм. наук; **М. Лобас**, канд. мед. наук, **М. Козлов**, канд. мед. наук; **С. Распутняк**, **Л. Янкова**

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ПРИЙНЯТТЯ: Міністерство охорони здоров'я України

- 2 ПРИЙНЯТО ТА НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Міністерства охорони здоров'я України від 19 серпня 2021 № 1765

- 3 Ця настанова відповідає документу:

«WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines», World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, Annex 1 («Керівництва ВООЗ щодо неклінічної оцінки вакцин», Всесвітня організація охорони здоров'я, Серія технічних звітів ВООЗ, № 927, 2005, Додаток 1)

Ступінь відповідності – модифікований (MOD)

Переклад з англійської (en)

- 4 ВВЕДЕНО ВПЕРШЕ

© Міністерство охорони здоров'я України, 2021

© Державний експертний центр МОЗ України, 2021

ЗМІСТ

	Стор.
Передмова	II
Національний вступ	V
Сфера застосування	8
Нормативні посилання	9
Терміни та визначення понять	10
Позначки та скорочення	15
Доклінічна оцінка вакцин	16
1. Вступ	16
2. Загальні примітки	17
3. Сфера дії	18
4. Характеристика вакцин-кандидатів	19
4.1. Виробництво вакцин	19
4.2. Активність	22
4.3. Стабільність	23
4.4. Міжнародні та національні керівництва	24
4.5. Випуск серії та незалежна лабораторна оцінка	26
4.6. Стандарти та референтні матеріали	26
5. Імуногенність та інші фармакодинамічні дослідження	27
6. Оцінка токсичності	29
6.1. Основна оцінка токсичності	29
6.1.1. Дизайн дослідження	29
6.1.2. Види, стать, вік тварин та розмір груп	30
6.1.3. Доза, шлях введення та контрольні групи	31
6.1.4. Параметри, що підлягають моніторингу	33
6.1.5. Місцева переносимість	35
6.2. Додаткові оцінки токсичності	35
6.2.1. Спеціальні імунологічні дослідження	35

6.2.2. Дослідження токсичного впливу на розвиток	36
6.2.3. Дослідження генотоксичності та канцерогенності	38
6.2.4. Фармакологія безпеки	38
6.2.5. Фармакокінетичні дослідження	38
7. Особливі міркування	39
7.1. Ад'юванти	39
7.2. Додатки (допоміжні речовини та консерванти)	40
7.3. Лікарська форма вакцини та пристрій для доставки	41
7.4. Альтернативні способи введення	41
7.4.1. Тваринні моделі	42
7.4.2. Доза	42
7.4.3. Кінцеві точки	43
7.4.4. Оцінка імуногенності	43
8. Певні міркування щодо окремих видів вакцин	44
8.1. Живі атенуйовані вакцини	44
8.2. Комбіновані вакцини	45
Додаток А (обов'язковий). Перелік тканин, що забираються у дослідженні токсичності при багаторазовому застосуванні препарату	47
Додаток Б (довідковий). Бібліографія	49

НАЦІОНАЛЬНИЙ ВСТУП

Розробка широкого спектра нових вакцин є успішним здобутком людства в боротьбі з інфекційними захворюваннями. У зв'язку з поширенням гострої респіраторної хвороби COVID-19, спричиненої коронавірусом SARS-CoV-2 у всьому світі гостро постало питання створення ефективної вакцини проти цієї інфекції. Зусиллями провідних фармацевтичних компаній наразі створено низку вакцин, дозволених для клінічного застосування в багатьох країнах, зокрема в Україні.

В Україні чинна нормативно-правова база, що стосується лікарських засобів для профілактики та лікування захворювань людини, постійно удосконалюється з метою гармонізації з нормативними вимогами ЄС. Такий підхід забезпечить в подальшому розробку ефективних та безпечних засобів лікування та профілактики інфекційних захворювань та дасть можливість створити в Україні ефективну систему доклінічного вивчення лікарських засобів.

Ця настанова розроблена на підставі керівництва щодо оцінки вакцин:

«WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines», World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, Annex 1» («Керівництва ВООЗ щодо неклінічної оцінки вакцин», Всесвітня організація охорони здоров'я, Серія технічних звітів ВООЗ, № 927, 2005, Додаток 1) [8].

Організація, відповідальна за цю настанову, – Міністерство охорони здоров'я України.

Настанова містить положення, що відповідають чинному законодавству України: статтям 6, 7, 8 Закону України «Про лікарські засоби» [1], Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [2], Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів [3], Настанові з належної лабораторної практики [4].

До цієї настанови внесено окремі зміни, зумовлені правовими положеннями і прийнятими в Україні нормативними документами. Деякі редакційні зміни було внесено безпосередньо до пунктів, яких вони стосуються.

До настанови внесено такі редакційні зміни та додаткову інформацію:

назву цієї настанови наведено відповідно до положень ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів» [5];

додатково введено такі структурні елементи настанови, як «Передмова», «Національний вступ», «Сфера застосування», «Нормативні посилання», «Позначки та скорочення», а також «Бібліографія», які оформлені згідно з положеннями ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів» [5] та ДСТУ 1.7-2015 «Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів» [8]. Розділ «Зміст» цієї настанови подано з урахуванням додаткових структурних елементів;

основні положення викладено у розділі «Рекомендації ВООЗ щодо доклінічної оцінки вакцин»; при цьому кожний структурний елемент у цій настанові відповідає такому у керівництві: «WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines», World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, Annex 1» («Керівництва ВООЗ щодо неклінічної оцінки вакцин», Всесвітня організація охорони здоров'я, Серія технічних звітів ВООЗ, № 927, 2005, Додаток 1);

у розділі «Нормативні посилання» додатково наведено бібліографічний опис нормативних документів, що згадуються у цій настанові;

у розділі «Бібліографія» додатково наведено бібліографічний опис нормативних документів, посилання на які наведено у цій настанові;

перелік скорочень, що використовуються у цій настанові, наведено в розділі «Позначки та скорочення»;

по всьому тексту внесені редакційні зміни у посилання на структурні елементи цієї настанови;

додатково до посилань на керівництва WHO, ICH та EMA зроблено посилання на відповідні гармонізовані документи, затверджені в Україні.

Ця настанова застосовується як методичні рекомендації для проведення доклінічних досліджень щодо доклінічної оцінки вакцин.

Юридична сила цієї настанови відповідає юридичній силі відповідного керівництва ВООЗ, з яким гармонізовано розроблену настанову. Цю настанову слід розглядати як технічний документ для надання консультацій заявникам та власникам реєстраційних посвідчень, компетентним уповноваженим органам та/або іншим зацікавленим особам щодо прийнятного способу дотримання положень, встановлених законодавством України. Ця настанова пов'язана зі специфічними науковими питаннями щодо доклінічного дослідження вакцин. Положення цієї настанови відображають гармонізований (у рамках ВООЗ, ЄС та ICH) підхід, що базується на останніх наукових досягненнях у цій галузі знань.

У рамках законодавства ця настанова має рекомендаційний характер. Дотримання її положень зацікавленими сторонами (такими як заявники, власники реєстраційних посвідчень, розробники та виробники лікарських засобів, експертні та регуляторні органи) підвищить безпеку проведення клінічних випробувань, сприятиме вдосконаленню принципів етики та зменшенню використання лабораторних тварин, прискоренню впровадження в медичну практику нових ефективних вакцин. Однак можуть бути застосовані альтернативні підходи за умови їх відповідного наукового обґрунтування.

Такий підхід до правового статусу більшості наукових настанов викладено у документі Європейського агентства з ліків (EMA) [7]. Вказаний підхід відповідає позиції Світової організації торгівлі щодо застосування стандартів.

НАСТАНОВА

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ Доклінічна оцінка вакцин

MEDICINAL PRODUCTS Nonclinical evaluation of vaccines

Чинна від 19 серпня 2021

СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Ця настанова визначає загальні принципи доклінічних досліджень вакцин.

Ця настанова застосовується до вакцин, що розробляються (створюються), реєструються і виробляються в Україні для медичного застосування в Україні та з метою експорту або імпортується в Україну.

Ця настанова поширюється на планування, проведення та аудит доклінічних досліджень вакцин.

Ця настанова рекомендується для суб'єктів господарювання, які займаються розробкою, доклінічним та клінічним вивченням, поданням заявок на державну реєстрацію вакцин на території України незалежно від відомчого підпорядкування та форми власності, для відповідних заявників та підприємств-виробників, продукція яких реєструється та імпортується в Україну, для науково-експертних організацій, експертів, що проводять експертизу при державній реєстрації (перереєстрації) лікарських засобів, а також для аудиторів та інспекторів.

НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

У цій настанові є посилання на такі нормативні документи:

Закон України «Про лікарські засоби».

Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19 січня 2010 року за № 53/17348.

Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. – Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.

«WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines», World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, Annex 1» («Керівництва ВООЗ щодо неклінічної оцінки вакцин», Всесвітня організація охорони здоров'я, Серія технічних звітів ВООЗ, № 927, 2005, Додаток 1).

ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

Нижче подано терміни, вжиті в цій настанові, та визначення позначених ними понять.

Ад'юванти (Adjuvants)

Речовини, які призначені для посилення належної імунної відповіді та подальшої клінічної ефективності вакцини.

Активність (Potency)

Міра біологічної активності з використанням відповідного кількісного біологічного аналізу, заснована на характерних ознаках лікарського засобу, пов'язаних з відповідними біологічними властивостями.

Валідація (Validation)

Дія доказу відповідно до принципів належної виробничої практики, що будь-яка процедура, процес, обладнання (включаючи використовуване комп'ютерне програмне забезпечення або комп'ютери), матеріали, діяльність або система дійсно призводить до очікуваних результатів.

Відповідна тваринна модель (Relevant animal model)

Це тварина, у якої розвивається імунна відповідь, подібна до очікуваної відповіді у людини після вакцинації. Визнано, що ймовірні відмінності в імунних відповідях є специфічними для певного виду. В ідеалі вибрані види тварин повинні бути чутливими до патогенного організму або токсину, що розглядається.

Генетично модифікований організм (ГМО) (Genetically modified organism (GMO))

Організм або мікроорганізм, генетичний матеріал якого було змінено способом, який не відбувається природним шляхом в результаті спаровування та/або

природної рекомбінації. Це визначення охоплює мікроорганізми, включаючи віруси, віроїди та культури клітин, у тому числі від тварин, але не поширюється на «оголену» рекомбінантну ДНК або «оголені» рекомбінантні плазміди.

Неклінічна оцінка вакцин (Nonclinical evaluation of vaccines)

Усі дослідження *in vivo* та *in vitro*, проведені до і під час клінічної розробки вакцин. Потенційну токсичність вакцини необхідно оцінювати не тільки до початку випробувань на людях, а й впродовж усієї клінічної розробки.

Доклінічна оцінка вакцини (Preclinical evaluation of vaccine)

Всі дослідження *in vivo* та *in vitro*, проведені до першого випробування вакцин на людині. Це є передумовою для початку клінічних випробувань і включає характеристику препарату, підтвердження концепції/дослідження імуногенності та дослідження безпеки на тваринах.

Доклінічне дослідження токсичності (Preclinical toxicity study)

Дослідження, основною метою якого є демонстрація безпеки та переносимості вакцини-кандидата. Дизайн доклінічного дослідження токсичності має відповідати критеріям, викладеним у розділі про дизайн дослідження, щоб його можна було розглядати як допоміжний для запланованого клінічного випробування.

Імуногенність (Immunogenicity)

Здатність вакцини індукувати імунітет, опосередкований антитілами, та/або клітинно-опосередкований імунітет, та/або імунологічну пам'ять.

Комбінована вакцина (Combination vaccine)

Вакцина, яка складається з двох або більше антигенів, поєднаних виробником або змішаних безпосередньо перед введенням, і призначена для захисту від

більш ніж однієї хвороби або від одного захворювання, спричиненого різними штамми або серотипами одного і того ж організму.

Належна виробнича практика (Good manufacturing practice (GMP))

Частина управління якістю, яка гарантує, що лікарські засоби постійно виробляються і контролюються відповідно до стандартів якості, які відповідають їх призначенню, а також відповідно до вимог реєстраційного досяє, досяє досліджуваного лікарського засобу для клінічних випробувань або специфікації на цю продукцію. У цій настанові GMP посилається на поточні настанови GMP, опубліковані ВООЗ.

Належна лабораторна практика (Good laboratory practice (GLP))

Система якості стосовно організації процесу та умов планування, проведення, моніторингу, реєстрації даних, надання результатів та зберігання матеріалів неклінічних досліджень щодо безпеки лікарського засобу для здоров'я людини та довкілля. Принципи GLP можуть розглядатися як набір критеріїв, яких необхідно дотримуватися як основи для забезпечення якості, надійності та цілісності досліджень, представлення висновків, що піддаються перевірці та відстеженню.

Належна клінічна практика (Good clinical practice (GCP))

Стандарт планування, проведення, виконання, моніторингу, аудиту і документального оформлення клінічних випробувань, а також обробки та подання їх результатів. Він є гарантією вірогідності й точності отриманих даних і наведених результатів, захищеності прав і здоров'я суб'єктів дослідження, а також дотримання конфіденційності щодо них.

Первинна вакцинація (Primary vaccination)

Перша вакцинація або серія щеплень, проведених впродовж попередньо визначеного періоду, з інтервалом менше 6 місяців між введенням доз для індукування клінічного захисту.

Плазміда (Plasmid)

Дволанцюгові кільцеві молекули ДНК, здатні до реплікації в бактеріальних клітинах.

Протокол, або план дослідження (Protocol or study plan)

Документ, який визначає передумови, обґрунтування та цілі неклінічних досліджень та описує їхній дизайн, методологію і організацію, включаючи статистичні міркування та умови, згідно з якими він повинен виконуватися та керуватися.

Ревакцинація (Booster vaccination)

Вакцинація, яка проводиться через певний інтервал часу після первинної вакцинації для посилення імунної відповіді та індукування тривалого захисту.

Сероконверсія (Seroconversion)

Попередньо визначене збільшення концентрації антитіл вважається корелюючим з переходом від серонегативного до серопозитивного стану, забезпечуючи інформацію про імуногенність вакцини. Якщо вже є антитіла, сероконверсія визначається як перехід від заздалегідь визначеного низького рівня до значно вищого визначеного рівня, такого як чотирикратне збільшення середньої геометричної концентрації антитіл.

Характеристика лікарського засобу (Product characterization)

Повний набір фізичних, хімічних і біологічних тестів, проведених для конкретного продукту. Ці тести містять, зокрема, тестування контролю

процесу, тестування на наявність сторонніх агентів, тестування технологічних добавок та проміжних продуктів, а також випуск серії.

Шлях введення (Route of administration)

Це спосіб, яким вводиться вакцина-кандидат хазяїну. Можливі шляхи введення включають внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, підшкірний, черезшкірний, інтрадермальний, трансдермальний, пероральний, інтраназальний, інтранодальний, інтравагінальний та інтраректальний.

ПОЗНАКИ ТА СКОРОЧЕННЯ

CBER	– Center for Biologics Evaluation and Research (<i>Центр з оцінки та досліджень біологічних препаратів</i>)
CFU	– Colony-forming unit (<i>колонієутворюючі одиниці</i>)
EDQM	– European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care (<i>Європейський директорат з контролю якості медичної продукції та охорони здоров'я</i>)
EMA	– The European Medicine Agency (<i>Європейське агентство з лікарських засобів</i>)
ICH	– International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (<i>Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини</i>)
WHO (ВООЗ)	– World Health Organization (<i>Всесвітня організація охорони здоров'я</i>)
БЦЖ	– вакцина для профілактики туберкульозу
ВІЛ	– вірус імунодефіциту людини
ВПЛ	– вірус папіломи людини
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ЕД ₅₀	– середня ефективна доза
СТ-Н	– Настанова МОЗ
МОЗУ	
ЮНІСЕФ	– Дитячий фонд ООН – міжнародна організація, яка діє під егідою Організації Об'єднаних Націй

ДОКЛІНІЧНА ОЦІНКА ВАКЦИН

1. ВСТУП

Недавній прогрес у біотехнології та фундаментальній імунології сприяв розробці широкого спектра нових вакцин, що розкривають значущі можливості профілактики інфекційних захворювань [9, 10]. Наразі розглядаються питання вдосконалення вже зареєстрованих вакцин. Такі вдосконалення призведуть до появи нових вакцин, а також до впровадження нових ад'ювантів. Проте складність та новизна цих засобів створює наукові та регуляторні проблеми, оскільки може не існувати критеріїв їхньої безпеки, ефективності та оцінки якості. З часом розробляються різні вакцини та нові підходи, технології та методології. Отже, судження, засноване на найкращих доступних наукових даних, завжди повинно бути основою для прийняття рішення щодо типу та обсягу оцінки цих вакцин.

Хоча неклінічна оцінка відіграє важливу роль у загальній розробці вакцин-кандидатів, наразі рекомендації щодо програм оцінки цих засобів обмежені. У цій настанові обговорюється неклінічна оцінка вакцин, при цьому особлива увага приділяється нормативним очікуванням щодо нових та новітніх вакцин.

Доклінічне дослідження є необхідною умовою для просування вакцини-кандидата від лабораторії до клініки і включає всі аспекти тестування, характеристики продукту, підтвердження концепції/дослідження імуногенності та тестування щодо безпеки на тваринах перед клінічним випробуванням вакцини на людях. Неклінічна оцінка в контексті цього документа стосується всіх проведених досліджень *in vivo* та *in vitro* до та під час клінічної розробки вакцин. Наприклад, неклінічна оцінка може бути потрібна при змінах процесу виробництва або рецептури продукту або для подальшого вивчення потенційних проблем безпеки, які могли виникнути під час I та II фаз

випробування або які були описані в спеціальній літературі для подібних продуктів.

2. ЗАГАЛЬНІ ПРИМІТКИ

Неклінічні дослідження спрямовані на визначення *in vitro* та *in vivo* характеристик вакцин-кандидатів, включаючи дослідження безпеки та імуногенності. Неклінічні дослідження на тваринах є цінним інструментом для виявлення можливих ризиків для вакцинованих та допомагають планувати протоколи для подальших клінічних випробувань на людях. Однак у всіх випадках, коли проводяться дослідження безпеки на тваринах, має бути чітке обґрунтування цього, а дослідження повинно проводитися відповідно до національного та міжнародного законодавства про захист лабораторних тварин [11], вимог біобезпеки [12] та згідно з Належною лабораторною практикою (GLP) [13]. Однак можуть бути ситуації, коли повна відповідність GLP неможлива. Якщо дослідження або частина дослідження не було проведено відповідно до GLP, слід визначити області невідповідності та скласти заяву про причину невідповідності.

Потенційні проблеми безпеки вакцинного продукту включають проблеми, пов'язані з невід'ємною токсичністю продукту, токсичністю домішок і забруднюючих речовин та токсичністю внаслідок взаємодії між компонентами вакцини, присутніми у складі вакцини. Крім того, імунна відповідь, індукована вакциною, може призвести до токсичних побічних ефектів.

Незважаючи на спроби максимізувати прогнозуючу цінність неклінічних досліджень токсичності, завжди існує ймовірність того, що не всі ризики будуть визначені. Необхідно визнати обмеження випробувань на тваринах щодо відображення клінічної безпеки та ефективності для людей, оскільки патогенез та імунні відповіді часто залежать від виду тварини. До того ж, потенційні проблеми безпеки, виявлені під час досліджень на тваринах, не обов'язково можуть свідчити про проблеми у людей. Однак будь-який сигнал,

який спостерігається в неклінічних дослідженнях токсичності, повинен ретельно розглядатися в клінічних випробуваннях на людях і може вимагати додаткових неклінічних досліджень. Слід зазначити, що відсутність виявленої токсичності в дослідженнях на тваринах не обов'язково означає, що вакцина буде безпечною для людини. Потенційні проблеми безпеки, пов'язані з конкретними типами вакцин-кандидатів, розглядаються в розділі 8 цієї настанови.

Заохочується розробка та подальша валідація тестів *in vitro* для використання як альтернативи неклінічній оцінці вакцин-кандидатів на тваринах, оскільки це може сприяти вдосконаленню неклінічних досліджень, а також до зменшення залучення тварин.

Необхідність та обсяг неклінічних досліджень залежать від вакцини, що розглядається. Наприклад, очікується, що для вакцини, для якої відсутній попередній неклінічний та клінічний досвід, неклінічне дослідження буде більш широким, ніж для тих вакцин, які раніше були зареєстровані та застосовувались людьми. У деяких випадках може бути відсутня необхідність проведення доклінічних досліджень безпеки перед початком клінічних випробувань фази 1. Наприклад, у разі передачі технології, де є доступ до бази даних вперше розробленої вакцини, дані перехідних неклінічних досліджень (наприклад фізико-хімічних характеристик та скорочених досліджень *in vivo*) можуть бути прийнятною основою для подальшої розробки продукту.

Рекомендується рання комунікація між виробником вакцини та відповідальним національним регуляторним органом щодо узгодження вимог до неклінічного вивчення та його виду.

3. СФЕРА ДІЇ

В цій настанові вакцини розглядаються як гетерогенний клас лікарських засобів, що містять імуногенні речовини, здатні індукувати специфічний активний та захисний для хазяїна імунітет проти інфекційних захворювань.

Хоча більшість вакцин розробляються для профілактики до і після контакту з інфекційним агентом, в деяких випадках вони можуть бути призначені для терапевтичного використання проти інфекційних захворювань, наприклад проти ВІЛ та ВПЛ. В цій настанові розглядаються як профілактичні, так і терапевтичні вакцини проти інфекційних захворювань.

Вакцини, що використовуються для людини, включають одне або кілька з такого: мікроорганізми, інактивовані хімічними та/або фізичними засобами, які зберігають відповідні імуногенні властивості; живі мікроорганізми, які були відібрані для їх ослаблення зі збереженням імуногенних властивостей; антигени, виділені з мікроорганізмів, що секретуються ними або продукуються за технологією рекомбінантної ДНК; химерні мікроорганізми; антигени, що продукуються *in vivo* у вакцинованого хазяїна після введення живого вектора або нуклеїнової кислоти, або антигенів, що продукуються хімічним синтезом *in vitro*. Антигени можуть бути у своєму природному стані, усічені або модифіковані після введення мутації, детоксифіковані хімічними або фізичними засобами та/або агреговані, полімеризовані або кон'юговані з носієм для підвищення імуногенності. Антигени можуть бути представлені як у вигляді простих речовин, так і у поєднанні з ад'ювантом або в поєднанні з іншими антигенами, добавками та іншими допоміжними речовинами.

Терапевтичні вакцини проти неінфекційних захворювань (наприклад певні протиракові вакцини) та моноклональні антитіла, що використовуються як імуногени (наприклад антиідіотипічні антитіла), тут *не* розглядаються.

4. ХАРАКТЕРИСТИКА ВАКЦИН-КАНДИДАТІВ

4.1. Виробництво вакцин

Біологічна природа вихідних матеріалів, процес виготовлення та методи досліджень, необхідних для характеристики партій продукту, є важливими елементами, які слід враховувати при розробці та тлумаченні неклінічних

досліджень вакцин. Багато вакцин виробляються з використанням прокаріотичних або еукаріотичних мікроорганізмів, і незначні зміни в цих організмах можуть радикально вплинути на вакцину. Отже, створення системи експресії (*seed-lot system*) є надзвичайно важливим для виробництва вакцин. Більше того, якість, безпека та ефективність цих вакцин, як правило, чутливі до змін умов виробництва. Якість та безпека вакцинних препаратів не може бути забезпечена лише тестуванням кінцевого продукту. Вони залежать від суворого контролю виробничого процесу, дотримання принципів належної виробничої практики (GMP) [14]. Це включає демонстрацію чистоти та якості вихідного матеріалу (сировини та системи експресії), контрольні тестування в процесі виробництва, тестування технологічних добавок та проміжних продуктів процесу, а також розробку та проведення дослідження на випуск партії. До того ж, оскільки зв'язок між фізичними та хімічними характеристиками, а також імуногенністю та ефективністю цих продуктів часто зрозумілий не повністю, біологічна характеристика за допомогою використання біологічних аналізів завжди повинна доповнювати фізичну і хімічну характеристику вакцини. Розробка відповідних лабораторних методів для характеристики складу вакцини щодо її компонентів, а також її безпеки та ефективності є необхідною передумовою клінічного використання будь-яких нових або новітніх вакцин проти бактерій, вірусів або паразитів.

Стабільність виробництва має важливе значення, і демонстрація того, що вакцина не відрізняється від партій вакцин, які виявились безпечними, адекватно імуногенними та захисними в клінічних випробуваннях, є найважливішим компонентом оцінки вакцин, реєстрації та випуску партії. Тому виробники повинні докласти максимум зусиль, щоб охарактеризувати ці клінічні партії та, якщо можливо, зберегти деякі з партій для подальшого використання як референтних.

Якщо не існує відповідної моделі на тваринах для тестування активності або коли відсутні прямі серологічні чи імунологічні кореляти клінічного захисту, завдання полягає у забезпеченні того, щоб кожна виробнича партія

мала таку ж захисну ефективність, як і партії, які в клінічних випробуваннях показали захисну здатність. У таких випадках все частіше робиться наголос на забезпеченні стабільності виробництва з застосуванням сучасних фізичних, хімічних та імунологічних методів, що дають змогу характеризувати деякі препарати з точністю, яка раніше була неможлива.

Партії вакцин, що використовуються в доклінічних дослідженнях, повинні бути адекватно репрезентативними щодо рецептури, призначеної для клінічного випробування. В ідеалі доклінічні дослідження повинні проводитись на тій самій партії, яка пропонується для клінічних випробувань. Якщо це неможливо, тоді досліджувані партії повинні бути порівнянними за фізико-хімічними даними, стабільністю та складом.

Як мінімум, приготування вакцин-кандидатів для клінічних випробувань слід проводити в умовах Належної виробничої практики (GMP) [15]. Однак повна відповідність GMP буде вимагатися на пізніших етапах клінічної розробки [14, 16].

Будь-які запропоновані зміни у виробничому процесі під час розробки вакцини слід ретельно розглянути, щоб оцінити їхній вплив на якість, безпеку та ефективність вакцини та можливу необхідність проведення додаткових неклінічних та клінічних досліджень.

Подальші зміни в методах виробництва або збільшення масштабів виробництва після реєстрації вакцини потребуватимуть додаткової характеристики вакцини, щоб продемонструвати порівнянність з оригінальною серією (серіями), що використовуються для демонстрації безпеки та ефективності вакцини. Обсяг необхідного дослідження порівнянності залежить від характеру впроваджених змін [17]. Ці зміни слід задокументувати та проконсультуватися з національним регуляторним органом. Регуляторні органи повинні чітко визначити та впровадити у своїх нормативних актах, які зміни вимагають лише повідомлення, а які зміни вимагають офіційного затвердження перед впровадженням [18].

Процедури, що застосовуються при характеристиці та контролі існуючих зареєстрованих традиційних вакцин, найімовірніше, не застосовуватимуться до нових вакцин, розроблених із використанням найсучасніших технологій для захисту від тієї самої інфекції. Наприклад, були розроблені спеціальні керівництва щодо виробництва та контролю безклітинних коклюшних вакцин, які відрізняються від керівництв, що застосовуються до цілюноклітинної коклюшної вакцини [19]. Відповідно, тести, що застосовуються для характеристики та контролю традиційної інактивованої вакцини проти холери для парентерального застосування, не обов'язково застосовуватимуться до нової інактивованої цілюноклітинної вакцини проти холери, призначеної для перорального введення. Тому необхідно розробити відповідний тест на активність для пероральної вакцини.

4.2. Активність

Тести на активність вимірюють біологічну активність вакцини, але не обов'язково відображають механізм захисту людей. Вимірювання активності часто використовується для перевірки відповідності виробничого процесу. Початкова концепція тестування активності вакцин, де антигенні компоненти не були чітко визначені, полягала в кількісному визначенні біологічної активності вакцини у порівнянні з референтним препаратом відомої біоактивності.

Класичні дослідження з контрольованим інфікуванням тварин, імунованих вакциною, що розглядається, стали звичайними аналізами активності (наприклад, щодо анатоксинів дифтерії та правця). У випадку аналізу активності цілюноклітинної вакцини проти кашлюку, що включає внутрішньомозкове зараження імунованих та неімунованих тварин, встановлюється кореляція з клінічним захистом у людини [18]. Якщо не існує відповідної моделі зараження тварин, активність часто ґрунтується на

вимірюванні імунних відповідей, як правило, серологічних (наприклад, вакцини проти грипу та гепатиту В).

Зовсім недавно технологія рекомбінантних ДНК та сучасні фізико-хімічні методи зробили можливим виготовлення високоочищених препаратів, які можна охарактеризувати краще, ніж класичні біологічні препарати. Однак все ще може бути відсутня можливість вимірювати «відповідну» біологічну активність таких препаратів. Для цих препаратів характеристика з використанням фізико-хімічних параметрів, таких як кількість антигену, розмір антигену, вміст білка тощо, може використовуватися як показник відповідності, але не обов'язково активності вакцини.

Підхід до вимірювання активності живих атенуйованих вакцин, як правило, відрізняється. Активність живих вірусних вакцин зазвичай ґрунтується на титруванні мінімальної інфекційної дози в культурі клітин або курячих ембріонах, що може розглядатися як сурогатний маркер активності, але не як показник самої активності. Подібний підхід застосовується до вимірювання активності живих атенуйованих бактеріальних вакцин, бацила Кальметта – Герена (БЦЖ), та вакцини проти черевного тифу (живий штам Ту21А, для перорального введення), в яких кількість наявних живих організмів є показником активності.

Для вакцин, які експресують вставки, що кодують гетерологічні вакцинні антигени (вакцини на основі вірусних або бактеріальних векторів), недостатньо визначити «біологічну активність» усієї конструкції шляхом вимірювання колонієутворюючих одиниць (CFU) або інфекційного титру. Для цих вакцин слід розглянути можливість використання інших методів, таких як кількісне визначення експресії вставки або оцінка ефективної дози (ED_{50}) векторної вакцини.

4.3. Стабільність

Оцінити стабільність вакцини складно, оскільки вона дуже схильна до інактивації під дією чинників зовнішнього середовища. Активність, як

визначено в розділі «Терміни та визначення понять», слід вимірювати в рамках тестування на стабільність, за винятком тих випадків, коли тестування активності на основі біологічної активності неможливе. Фізико-хімічну характеристику препарату слід включити в оцінку стабільності. Для вакцини, що надходить для клінічного випробування на людях, слід зібрати достатньо даних, щоб підтвердити стабільність вакцини протягом періоду доклінічного та клінічного дослідження. У деяких випадках дані прискореної стабільності можуть використовуватися для підтвердження попередніх даних, отриманих за нормальної температури зберігання. Дані про стабільність для підтримки реєстрації слід отримувати згідно з запропонованими умовами зберігання, і вони повинні базуватися на довгострокових дослідженнях стабільності в режимі реального часу.

Зрештою, також слід враховувати стабільність стандартів та референтних матеріалів для гарантування надійної стандартизації процедур, що використовуються для вимірювання відповідних параметрів.

4.4. Міжнародні та національні керівництва

Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) шляхом багатьох міжнародних консультацій розробляє рекомендації та керівництва щодо виробництва та контролю вакцин та інших важливих біологічних препаратів [13], що є основою для гарантування прийнятності препаратів у всьому світі. Ці документи визначають необхідність відповідних вихідних матеріалів, включаючи систему експресії та банки клітин; суворого дотримання встановлених протоколів; тестів на чистоту, активність та безпеку на певних етапах під час виробництва та ведення належних записів. Керівництва передбачають більшу гнучкість, ніж рекомендації, щодо конкретних питань, що стосуються певних вакцин.

ВООЗ також надає керівництва щодо виробничих підприємств, що займаються виробництвом вакцин. Рекомендації можна знайти в документі

ВООЗ щодо належної виробничої практики біологічних препаратів [14]. Особливу увагу слід приділити розробці стандартних операційних процедур, підтверджених документами, як для виробничих процесів, так і для процедур тестування. Їх слід вводити якомога раніше під час розробки вакцини, вони мають бути добре обґрунтовані на момент проведення клінічних досліджень III фази та подання заяви на отримання реєстрації. Основні принципи виробництва та контролю вакцин опубліковані у серії технічних звітів ВООЗ [14, 21–25]. Спеціальні керівництва та рекомендації ВООЗ щодо певних вакцин також наявні, і їх слід враховувати, якщо необхідно.

Рекомендації та керівництва ВООЗ мають бути науково-консультативними за своїм характером та надавати керівництво національним регуляторним органам та виробникам вакцин. Ці документи національні органи охорони здоров'я можуть прийняти як чіткі національні постанови або використовувати як основу для таких постанов. Вони також використовуються як основа для прийняття рішення про прийнятність вакцин для закупівлі агентствами ООН, такими як Дитячий фонд ООН (ЮНІСЕФ), для використання в глобальних програмах імунізації. Регуляторні вимоги щодо вакцин та інших біологічних препаратів також розробляються іншими органами, такими як Європейське агентство з оцінки лікарських засобів (ЕМА) та Американський центр з оцінки та досліджень біологічних препаратів (СВЕР) (26); ці документи можна знайти на відповідних вебсайтах (www.emea.eu.int та www.fda.gov/cber). Крім того, фармакопейні вимоги, такі як вимоги Європейської фармакопеї, також встановлені щодо вакцин і доступні на вебсайті www.phEur.org.

Щодо нещодавно розроблених препаратів спеціальні вимоги ВООЗ, національні або фармакопейні вимоги можуть бути відсутні і національному регуляторному органу необхідно буде узгоджувати специфікації з виробником у кожному конкретному випадку під час оцінки вакцин для клінічних випробувань та реєстрації. Для деяких з цих нових препаратів загальне керівництво ВООЗ щодо виробництва та контролю можна знайти у відповідних документах, таких, що описують ДНК та пептидні вакцини [21, 23], а також

рекомендації щодо субстратів для розмноження тваринних клітин, які використовуються для виробництва біологічних препаратів [21].

Крім того, інформацію щодо методів гарантування якості біологічних препаратів загалом і щодо процедур схвалення виробництва та створення національної лабораторії з контролю можна знайти у відповідних керівництвах ВООЗ [24, 25]. Для вакцини, призначеної для продажу у всьому світі, розробка якої також передбачає значну міжнародну співпрацю, вкрай важливо забезпечити послідовність регуляторного підходу до нових препаратів, таких як вакцини для профілактики ВІЛ [26].

4.5. Випуск серії та незалежна лабораторна оцінка

Потенційна варіабельність методів виробництва біологічних препаратів призвела до встановлення національних та міжнародних вимог щодо визначення процедур з метою гарантування якості вакцин та оцінки стабільності як поміж виробників, так і протягом тривалого часу. Зареєстровані вакцини підлягають незалежному випуску серії (огляду, тестуванню та дозволу на випуск серії вакцин незалежно від виробника) національним регуляторним органом або національною лабораторією з контролю якості перед випуском на ринок. Незалежна оцінка передбачає щонайменше оцінку даних випуску серії виробника (огляд протоколу), але в багатьох випадках вона включає також незалежні лабораторні тестування додатково до тих, що проведені виробником.

Тести випуску серії або партії – це ті випробування, які були вибрані під час повної характеристики вакцини, щоб продемонструвати чистоту, безпеку та активність вакцини. Тестування випуску серії надасть один показник, який гарантуватиме, що серія може бути виготовлена послідовно. Валідація та встановлення специфікацій випуску серії та випробувань – це процес, який триває протягом усієї розробки вакцини і повинен завершитися до реєстрації.

У деяких країнах зразки вакцин для клінічних випробувань вимагаються національним регуляторним органом в рамках процесу схвалення клінічних

випробувань. Розробникам вакцин рекомендується проконсультуватися з відповідним регуляторним органом на початковому етапі розробки вакцини.

4.6. Стандарти та референтні матеріали

Стандарти та референтні матеріали відіграють важливу роль у реєстрації та процесі контролю якості. Їхня роль варіюється від використання у тесті на розпізнавання конкретного антигену до досліджень токсичності, імуногенності та активності вакцини. Стандартизація методів, що використовуються для оцінки вакцин, а також методів, що використовуються для оцінки імунної відповіді на антигени вакцин, також є суттєво важливою для можливості порівнювання результатів безпосередньо між лабораторіями як всередині країн, так і між країнами, а також поміж клінічними випробуваннями.

Міжнародні біологічні стандарти та референтні реагенти ВООЗ є первинними стандартами, що використовуються у всьому світі. Крім того, національні регуляторні органи та виробники можуть створювати вторинні (регіональні, національні), робочі стандарти з метою тестування якості вакцини за принципом збереження однорідності характеристик від партії до партії. Такі стандарти слід калібрувати порівняно з міжнародними стандартами, коли вони існують. Є занепокоєння стосовно того, що різні вторинні стандарти можуть призвести до відхилення від міжнародного стандарту. Створення вторинних стандартів у великому масштабі (наприклад, на регіональній основі) скорочує кількість вторинних стандартів у використанні, а це повинно покращити достовірність тестування якості вакцини. Наприклад, Європейський департамент якості лікарських засобів (EDQM) Ради Європи бере активну участь у розробці робочих стандартів для вакцин, що калібруються відповідно до міжнародних стандартів ВООЗ, де це необхідно. Повний перелік Міжнародних стандартів та еталонних реагентів ВООЗ можна знайти на вебсайті ВООЗ: www.who.int/biologicals.

5. ІМУНОГЕННІСТЬ ТА ІНШІ ФАРМАКОДИНАМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Фармакодинамічне дослідження, як правило, проводять для оцінки імуногенності вакцини. Однак фармакодинамічне дослідження може також поширюватися і на фармакологію ад'юванту.

Дослідження імунізації слід проводити на тваринних моделях, оскільки вони можуть надати цінну інформацію про «підтвердження концепції» на підтримку плану клінічної розробки. Крім того, дані про імуногенність, отримані під час використання відповідних тваринних моделей, корисні для встановлення імунологічних характеристик вакцини і ними можна керуватися при виборі доз, схем та шляхів введення, що підлягають оцінці в клінічних випробуваннях. Під час неклінічних досліджень імуногенності необхідно оцінити відповідну імунну відповідь, наприклад гуморальну та/або клітинно-опосередковану імунну відповідь, індуковану у вакцинованих тварин. Залежно від індукованої імунної відповіді такі дослідження можуть включати оцінку показників сероконверсії, середнього геометричного титрів антитіл або клітинно-опосередкованого імунітету у вакцинованих тварин. Дизайн доклінічних досліджень слід, де це можливо, розробляти з метою оцінки відповідних імунних відповідей, включаючи функціональну імунну відповідь (наприклад, нейтралізуючі антитіла, опсонофагоцитарну активність тощо). Дизайн цих досліджень також може розроблятися з метою усунення інтерференції між антигенами та/або живими вірусами. Якщо у складі вакцини міститься більш ніж один визначений антиген (наприклад, ацелюлярна вакцина проти кашлюку, що складається з 3–5 білкових продуктів), слід оцінити відповідь на кожен антиген. Якщо доречно, дослідження зараження захисту з відповідним інфекційним агентом може проводитися для підтвердження відповідності тваринних моделей. Основним питанням при інтерпретації даних, отриманих в результаті таких досліджень, має бути визначення того, наскільки значна схожість тваринної моделі з захворюванням та імунною відповіддю у

людини. Слід визнати, що тваринні моделі часто не можуть передбачити імуногенність та ефективність у людини.

6. ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ

Неклінічну оцінку безпеки вакцин потрібно розглядати у контексті еволюції галузі розробки вакцин. Отже, судження на підставі найкращих наукових досягнень завжди має бути основою для будь-яких рішень щодо необхідності проведення неклінічних досліджень безпеки, типів досліджень та дизайнів досліджень. Відповідно, наукове судження слід застосовувати для інтерпретації даних доклінічних досліджень щодо співвідношення ризик-користь, тваринної моделі, дозування тощо. Наприклад, спостереження реакцій гіперчутливості на тваринній моделі не обов'язково виключає перехід до клінічних випробувань, але може свідчити про необхідність ретельного моніторингу певного клінічного параметра.

У розділі 6.1 представлено загальні принципи визначення дизайну доклінічного дослідження токсичності вакцини. Параметри, викладені в цьому розділі, вважаються мінімумом, що вимагається для оцінки безпеки до початку клінічних випробувань за участю людини у ситуаціях, коли доклінічні дослідження безпеки вважаються необхідними. Оскільки дизайн будь-якого дослідження токсичності є специфічним для вакцини та ґрунтується на показаннях, то модифікації у принципах, наведених нижче, можуть бути необхідними у відповідь на певні характеристики продукту, наявність тваринних моделей, методології тощо.

У розділі 6.2 представлено додаткові міркування щодо виконання особливої оцінки токсичності, яка може бути потрібна для кожного конкретного випадку.

6.1. Основна оцінка токсичності

6.1.1. Дизайн дослідження

Доклінічне дослідження токсичності має бути адекватним для виявлення та характеристики потенційних токсичних ефектів вакцини, щоб дати змогу дослідникам дійти висновку про достатню безпеку переходу до клінічного випробування. Параметри, які слід враховувати при розробці дизайну токсикологічних досліджень на тваринах, включають відповідні види та породи тварин, графік дозування та спосіб введення вакцини, а також терміни оцінки кінцевих точок (наприклад, відбір проб для клінічних хімічних аналізів, оцінка антитіл і розтин). Шлях введення повинен відповідати шляху, що запланований для використання в клінічних випробуваннях. Коли вакцина вводиться в клінічних випробуваннях за участю людини за допомогою певного пристрою, той самий пристрій слід використовувати у дослідженнях на тваринах, де це можливо (наприклад, аерозольна вакцина проти кору на моделі мавп). Потенційні токсичні ефекти продукту слід оцінювати з урахуванням органів-мішеней, дози, шляху(-ів) введення, тривалості та частоти введення та потенційного оборотного характеру реакцій. Оцінку токсичності вакцини можна проводити або в окремих самостійних дослідженнях токсичності, або у поєднанні з дослідженнями безпеки та активності, які мають кінцеві точки токсичності, що включені в дизайн. До дослідження також слід включати оцінку місцевої переносимості.

6.1.2. Види, стать, вік тварин та розмір груп

Дані, які слід реєструвати стосовно тварин, що використовуються для дослідження токсичності, повинні включати інформацію про джерело, види та процедури утримання тварин (наприклад, розміщення, годування, поводження та догляд за тваринами). Як правило, рекомендується використання аутбредних

(нелінійних) тварин. Здоров'я тварин слід оцінювати відповідно до прийнятної ветеринарної медичної практики, щоб забезпечити умови, за яких будь-який стан тварини не заважав би проведенню дослідження. Наприклад, індивідуальне розміщення лабораторних тварин для мінімізації ризику перехресної передачі інфекції.

По можливості слід охарактеризувати профіль безпеки вакцини на видах, чутливих до біологічних ефектів досліджуваної вакцини. В ідеалі вибраний вид тварин повинен бути чутливим до патогенного організму або токсину. У видів тварин, що використовуються, повинна розвиватися імунна відповідь на антиген у складі вакцини. Загалом, одного відповідного виду тварин достатньо для використання в дослідженнях токсичності для підтримки початку проведення клінічних випробувань. Однак можуть бути ситуації, коли потрібні два або більше види для характеристики вакцини, наприклад, коли механізм захисту, викликаний вакциною, недостатньо зрозумілий (наприклад, інтраназальна вакцина проти грипу та інтраназальна вакцина проти кору).

Крім того, коли спостерігаються специфічні для певного виду або породи відмінності у фармакодинаміці вакцини, може бути потрібний розгляд питання неклінічної безпеки вакцини у більш ніж в одному дослідженні безпеки та більш ніж на одній тваринній моделі.

Розмір групи лікування залежить від обраної тваринної моделі. Очікується, що кількість тварин у дослідженнях з використанням нелюдиноподібних приматів, буде меншою, ніж у дослідженнях, в яких використовують гризунів. Для моделей з використанням невеликих тварин, наприклад щурів та мишей, рекомендується включати приблизно 10 самців + 10 самок до кожної групи.

Як правило, на початку дослідження приблизний вік для гризунів становить 6–8 тижнів, а для кролів – 3–4 місяці.

6.1.3. Доза, шлях введення та контрольні групи

Дослідження токсичності слід проводити із застосуванням дози, яка максимально збільшує вплив вакцини-кандидата на тварину та індуковану імунну відповідь, наприклад, пікова відповідь антитіла. Як правило, оцінка співвідношення доза-відповідь не вимагається як частина основної оцінки токсичності, а також не потрібно визначати летальну дозу. Однак можуть проводитися пілотні дослідження співвідношення доза-відповідь для визначення, яка доза індукує найвищу продукцію антитіл у тваринній моделі. Якщо це можливо, на тваринній моделі слід оцінювати найвищу дозу (в абсолютних показниках), яку планується використовувати у запропонованому клінічному випробуванні. Однак інколи доза обмежується загальним об'ємом, який можна вводити в одній ін'єкції, а також слід дотримуватися рекомендацій щодо утримання тварин. У таких випадках загальний об'єм може вводитися на декількох ділянках з використанням однакового шляху введення. Як варіант, може застосовуватися доза, яка перевищує дозу для людини при розрахунку у мг/кг та викликає імунну відповідь у тваринній моделі. У таких випадках слід обґрунтувати коефіцієнт перерахунку величини дози для тварин на дозу для людини.

Кількість доз, введених досліджуванним тваринам, повинна дорівнювати або перевищувати кількість доз, запропонованих для людини. Для кращої імітації запропонованого клінічного використання дози вакцини слід вводити через визначені інтервали часу, а не як добові дози; інтервал дозування, що використовується у дослідженні токсичності, може бути коротшим (наприклад, інтервал становить 2–3 тижні), ніж запропонований інтервал у клінічних випробуваннях за участю людини. Інтервал дозування в неклінічних дослідженнях може базуватися на кінетиці первинної та вторинної імунної відповіді у вигляді продукції антитіл, що спостерігається у тваринній моделі. Дослідження дози для одноразового введення може проводитися в ситуаціях, коли очікується, що антитіла, індуковані вакциною, нейтралізують живий вірусний вектор, тим самим обмежуючи експресію гена, що становить інтерес (наприклад, антиаденовірусна імунна відповідь), або коли очікується, що імунні

відповіді, індуковані у тварин, реагуватимуть на видоспецифічні білки, присутні у складі вакцини (наприклад, рекомбінантні цитокіни людини, що використовуються як ад'юванти).

Шлях введення повинен відповідати шляху, призначеному для використання в клінічних випробуваннях за участю людини. Якщо токсичні ефекти спостерігаються в дослідженнях безпеки з використанням певного шляху введення (наприклад інтраназального), подальші дослідження токсичності з використанням іншого шляху введення (наприклад внутрішньовенного) можуть бути корисними для розуміння повного спектра токсичності лікарського засобу.

Дизайн дослідження повинен включати групу(-и) негативного контролю для оцінки вихідного рівня лікування. У разі необхідності група активного контролю (наприклад, вакцина, що не містить антигену у своєму складі) також може бути включена до вивчення. Дослідження повинно включати додаткову групу лікування з тваринами, що підлягають забою та яких планується оцінювати, як описано нижче, пізніше після лікування, щоб дослідити оборотний характер будь-яких побічних ефектів, що спостерігаються протягом періоду лікування, та для перевірки щодо можливих відкладених побічних ефектів.

6.1.4. Параметри, що підлягають моніторингу

У дослідженнях токсичності слід розглядати потенційну можливість вакцини спричиняти місцеві запальні реакції та можливу дію на дренажні лімфатичні вузли, системну токсичність та імунну систему. Широкий спектр інформації повинен бути отриманий у дослідженнях токсичності. Параметри, що підлягають моніторингу, повинні включати щоденні клінічні спостереження, щотижневі вимірювання маси тіла та щотижневе споживання їжі. У перший тиждень прийому рекомендовані часті вимірювання маси тіла та споживання їжі, якщо це можливо, оскільки вони є чутливими параметрами, що

вказують на «хворобу». Проміжний аналіз гематологічних показників та хімічних показників сироватки слід розглядати приблизно через 1–3 дні після введення першої та останньої дози і наприкінці періоду відновлення. Гематологічні та хімічні аналізи повинні включати як мінімум оцінку відносної та абсолютної диференціальної кількості лейкоцитів (лімфоцитів, моноцитів, гранулоцитів, аномальних клітин) та співвідношення альбумін/глобулін, ферментів та електролітів. У деяких випадках може бути корисною оцінка параметрів коагуляції, зразків сечі та класів імуноглобулінів сироватки. Дані слід збирати не тільки під час лікування, але також після фази відновлення (наприклад, 2 тижні або більше після останньої дози) для визначення персистентності та аналізу загострення та/або оборотного характеру потенційних побічних явищ.

По завершенню дослідження слід вимірювати остаточну масу тіла (у стані натще). Кінцеві зразки крові повинні бути зібрані, а дослідження хімічних показників сироватки, гематологічні та імунологічні дослідження слід проводити, як описано в попередньому абзаці. Імунну відповідь, викликану вакциною-кандидатом, слід оцінювати для того, щоб підтвердити, що обрано відповідну тваринну модель. Слід провести повний макроскопічний розтин, зібрати та консервувати тканини, слід обстежити макроскопічні ураження та зареєструвати вагу органів [27]. Слід проводити гістопатологічні дослідження тканин і приділяти особливу увагу імунним органам, тобто лімфатичним вузлам (як місцевим, так і віддаленим від місця введення), тимусу, селезінці, кістковому мозку та Пейєровим бляшкам або бронхо-асоційованій лімфоїдній тканині, а також органам, які, як можна очікувати, зазнають впливу внаслідок певного обраного способу введення. Гістопатологічні дослідження повинні завжди включати життєво важливі органи (наприклад мозок, нирки, печінку та репродуктивні органи) та місце введення вакцини. Вибір тканин для обстеження (від короткого переліку, обмеженого імунними та життєво важливими органами, до повного переліку, що наведений в Додатку А) залежатиме від відповідної вакцини, а також знань та досвіду, отриманих з

попередніх неклінічних та клінічних досліджень компонентів вакцини. Наприклад, повне обстеження тканин потрібне в дослідженнях нових вакцин, для яких немає попередньо отриманих неклінічних та клінічних даних. Отже, перелік тканин, що підлягають дослідженню, слід визначати в індивідуальному порядку після консультації з відповідним регуляторним органом. Дані слід описувати повністю, перераховуючи оригінально отримані значення, та узагальнювати їх.

6.1.5. Місцева переносимість

Оцінку місцевої переносимості слід проводити як частину дослідження токсичності за повторного введення або як самостійне дослідження. Переносимість слід визначати на тих ділянках, які контактують з антигеном вакцини внаслідок способу введення, та також на тих ділянках, що піддаються впливу вакцини випадково (наприклад, вплив на очі під час введення за допомогою аерозолі). Детальніша інформація опублікована в іншому керівництві [28].

Якщо відхилення від норми спостерігаються в основному дослідженні токсичності, описаному у розділі 6.1, для оцінки механізму токсичної дії можуть бути потрібні додаткові дослідження.

6.2. Додаткові оцінки токсичності

6.2.1. Спеціальні імунологічні дослідження

У певних випадках результати оцінки імунної відповіді, що проводилася під час неклінічних та клінічних досліджень або на підставі даних про природний перебіг захворювання, можуть вказувати на імунологічні аспекти токсичності, наприклад на преципітацію імунних комплексів, гуморальну або клітинно-опосередковану імунну відповідь проти антигенних детермінант самого хазяїна як наслідок молекулярної мімікрії або загострення хвороби

(наприклад, інактивована вакцина проти кору). У таких випадках може виникнути потреба у проведенні додаткових досліджень для вивчення механізму спостережуваного ефекту.

Велика подібність детермінант вакцин та молекул хазяїна може спричиняти аутоімунні реакції, індуковані молекулярною мімікрією [30]. Отже, до будь-якого вакцинного антигену, характеристики якого можуть імітувати характеристики антигену хазяїна, слід ставитися з обережністю, хоча визнано, що молекулярна мімікрія не обов'язково створює схильність до аутоімунітету.

Оскільки при виборі та розробці відповідних тваринних моделей для вирішення вищезазначених питань, можливо, необхідно докласти значних зусиль, слід бути обережними та наводити вагомі обґрунтування при розробці вакцини від захворювань, пов'язаних з аутоімунною патологією.

Якщо дані свідчать про те, що збудник, діяти проти якого призначена вакцина, може спричинити аутоімунну патологію, для вирішення цієї проблеми у кожному окремому випадку можуть бути потрібні дослідження, якщо існує відповідна тваринна модель.

Слід зазначити, що спостереження біологічних маркерів для аутоімунних реакцій не обов'язково пов'язані з патогенними наслідками. Наприклад, наявність аутоімунних антитіл не обов'язково вказує на індукцію аутоімунного захворювання [29].

Коли реакції гіперчутливості, спричинені антигеном(-ми), ад'ювантами, допоміжними речовинами або консервантами, викликають занепокоєння, можуть бути виправданими додаткові дослідження.

6.2.2. Дослідження токсичного впливу на розвиток

Зазвичай дослідження токсичного впливу на розвиток не потрібні для вакцин, що показані для імунізації в дитинстві. Однак якщо цільова популяція для вакцини включає вагітних жінок та жінок, які мають дітородний потенціал, слід розглянути питання проведення дослідження токсичного впливу на

розвиток, якщо виробником не буде висунуто науковий та клінічно обґрунтований аргумент для демонстрації того, що проведення таких досліджень непотрібне. Для профілактичних вакцин оцінка репродуктивної токсичності, як правило, обмежена дослідженнями пренатального та постнатального розвитку, тому що основне занепокоєння викликає будь-який потенційно несприятливий вплив на розвиток ембріона, плода або новонародженого. Потребу в оцінках фертильності та стану після припинення грудного вигодовування слід визначати в індивідуальному порядку. Обрана тваринна модель повинна проявляти імунну відповідь на вакцину, яка зазвичай визначається вимірюванням рівня антитіл у сироватці крові. Крім того, важливо оцінити передачу материнських антитіл шляхом вимірювання індукованого вакциною антитіла в пуповинній крові або крові плода для перевірки впливу материнських антитіл на ембріон або плід. Шлях введення повинен імітувати шлях, передбачений для клінічного випробування. В ідеалі досліджуваній тварині слід вводити максимальну дозу для людини. Якщо неможливо ввести повну дозу, передбачену для людини, наприклад, через обмеження на загальний об'єм, який можна вводити, або якщо спостерігається місцева токсичність, що може призвести до стресу матері, слід використовувати дозу, що перевищує дозу для людини у перерахунку на мг/кг і здатна викликати імунну відповідь у тварини.

Для оцінки будь-якої потенційної побічної дії вакцини під час періоду органогенезу вагітна тварина, як правило, зазнає впливу вакцини протягом періоду від імплантації до закриття твердого піднебіння та завершення вагітності, що визначаються як стадії C, D та E у документі ICH S5a [31]. Через відносно короткий термін вагітності більшості тваринних моделей, що використовуються, часто виникає потреба у лікуванні перед спаровуванням для забезпечення максимального впливу на ембріон або плід для отримання імунної відповіді, спричиненої вакциною. Для профілактичної вакцини кількість введених доз залежить від часу початку та тривалості відповіді. Повторна вакцинація може бути потрібна у певні строки під час вагітності для

підтримання високого рівня антитіл протягом періоду вагітності та впливу компонентів вакцини на ембріон, що розвивається. Кінцеві точки включають, зокрема, життєздатність, резорбцію, передчасне припинення вагітності, масу тіла плода та морфологію. Також рекомендується включити період постнатального спостереження за потомством від народження до відлучення від самки у дизайн дослідження для оцінки відповідності росту нормі, збільшення маси тіла, смоктальної активності та життєздатності. Тому дослідження повинні бути розроблені таким чином, щоб досліджувані групи були розділені на підгрупи. Пологи у половини тварин повинні проводитися за допомогою кесаревого розтину, а для іншої половини тварин дозволені пологи без хірургічного втручання.

6.2.3. Дослідження генотоксичності та канцерогенності

Дослідження генотоксичності, як правило, не потрібні для остаточного складу вакцини. Однак вони можуть бути необхідні для певних компонентів вакцини, таких як нові ад'юванти та добавки. Якщо потрібно, слід проводити *in vitro* тести на мутації та пошкодження хромосом до того, як вперше буде здійснюватися вплив на людину. Повний набір тестів на генотоксичність може проводитися паралельно з клінічними випробуваннями [32].

Дослідження канцерогенності для антигенів вакцин не потрібні. Однак вони можуть бути необхідні для певних компонентів вакцини, таких як нові ад'юванти та добавки.

6.2.4. Фармакологія безпеки

Мета фармакології безпеки – дослідити вплив вакцини-кандидата на життєво важливі функції. Якщо дані неклінічних та/або клінічних досліджень на людях свідчать про те, що вакцина (наприклад вакцина на основі конкретних анатоксинів) може впливати на фізіологічні функції (наприклад на центральну

нервову систему, дихальну, серцево-судинну та ниркову функції), крім функцій імунної системи, дослідження фармакології безпеки повинні бути включені в оцінку токсичності. Корисну інформацію на цю тему можна знайти в *Керівництві з питань фармакологічних досліджень безпеки лікарських засобів для людей* [33].

6.2.5. Фармакокінетичні дослідження

Фармакокінетичні дослідження (наприклад, для визначення концентрації компонентів вакцини у сироватці або тканинах) зазвичай не потрібні. Потреба у спеціальних дослідженнях повинна розглядатися в кожному конкретному випадку (наприклад, при застосуванні нових ад'ювантів або альтернативних способів введення) і може включати дослідження депонування в місці введення, які оцінювали б утримання (депонування) вакцинного компонента в місці ін'єкції та його подальший розподіл (наприклад, до дренуючих лімфатичних вузлів). Дослідження розподілу слід розглянути у випадку нового складу, нових ад'ювантів або коли передбачається використання альтернативних способів введення (наприклад, пероральний або інтраназальний).

7. ОСОБЛИВІ МІРКУВАННЯ

7.1. Ад'юванти

Ад'юванти можуть включатися до складу вакцин або одночасно вводитися з вакцинами для посилення імунної реакції на певний антиген(-и) або для націлювання на певні імунні реакції. Важливо, щоб використовувані ад'юванти відповідали фармакопейним вимогам там, де вони існують, і щоб вони не спричиняли неприйнятної токсичності.

Ад'ювантна активність є результатом багатьох факторів, і імунна реакція, отримана при застосуванні одного певного складу, що включає антиген/ад'ювант, як правило, не може поширюватись на інший антиген. Окремі антигени відрізняються за своїми фізичними та біологічними властивостями, і антигени можуть по-різному взаємодіяти з ад'ювантом. Ад'юванти слід вибирати відповідно до типу бажаної імунної реакції, і вони мають взаємодіяти з антигеном таким чином, щоб розподіл обох був оптимізований для забезпечення доступності відповідних лімфатичних тканин. Спосіб введення вакцини також є важливим фактором, що впливає на ефективність та безпеку ад'юванту.

Ефект ад'юванту слід продемонструвати в доклінічних дослідженнях імуногенності. Якщо токсикологічних даних для нового ад'юванту не існує, спочатку слід провести дослідження токсичності лише ад'юванту. Загалом, оцінку нових або принципово нових ад'ювантів слід проводити відповідно до вимог для нового хімічного суб'єкта [34–36]. Ці дані можуть бути отримані виробником вакцини або виробником ад'юванту. Окрім самої оцінки безпеки ад'юванту, важливо також оцінити, чи має комбінація антигену та ад'юванту синергічний побічний ефект на тваринній моделі [37, 38]. При використанні видоспецифічних білків (наприклад, цитокіни) як нових ад'ювантів слід розглянути питання про видоспецифічні реакції.

Для оцінки профілю безпеки комбінації ад'юванту та вакцини слід використовувати склад, запропонований для клінічного застосування.

Слід оцінити сумісність ад'юванту (-ів) (наприклад, відсутність імунного втручання) з усіма антигенними компонентами, наявними у вакцині.

Якщо це можливо, адсорбція всіх антигенних компонентів, що містяться у вакцині, повинна бути стабільною від серії до серії. Потенційну десорбцію антигену протягом терміну придатності лікарського засобу слід проводити в рамках дослідження стабільності, повідомлених результатів та встановлених специфікацій, оскільки це може впливати не тільки на імуногенність, але й на профіль токсичності лікарського засобу.

Слід зазначити, що жоден ад'ювант не ліцензується сам по собі, а лише як компонент певної вакцини.

7.2. Додатки (допоміжні речовини та консерванти)

Там, де слід використовувати нову добавку, для якої відсутні токсикологічні дані, спочатку слід провести дослідження токсичності самої добавки, а результати задокументувати відповідно до керівництв для нових хімічних сполук [35]. Сумісність нової добавки з усіма антигенами вакцин повинна бути задокументована разом з токсикологічним профілем кінцевого складу вакцини, що розглядається на тваринних моделях, як зазначено у розділі 6.

7.3. Лікарська форма вакцини та пристрій для доставки

Лікарська форма вакцини (тобто рідка форма, капсули або порошок), а також пристрій для доставки можуть впливати на засвоєння вакцини, її ефективність та безпеку. В ідеалі пристрій для доставки та склад вакцини, вивчені у дослідженні безпеки на тваринах, повинні бути ідентичні тим, які призначені для клінічного використання. Однак тваринні моделі, на яких можна випробувати пристрій для доставки, призначений для клінічного використання, можуть бути недоступними. У цих випадках для розробки відповідної тваринної моделі може бути потрібне проведення пілотних досліджень щодо визначення та оптимізації умов доставки діючої речовини на тваринній моделі, перш ніж її можна буде використати для оцінки доклінічної безпеки вакцини.

7.4. Альтернативні способи введення

У разі введення вакцин альтернативним шляхом (наприклад інтраназально, перорально, внутрішньошкірно тощо) можна припустити, що

їхня активність, релевантна імуногенність, переносимість, токсичність та довгострокова безпека можуть відрізнятися від ефективності вакцин, що вводяться парентерально. Таким чином, коли пропонуються різні шляхи введення, можливо, доведеться провести неклінічні дослідження безпеки, використовуючи лише вакцину та/або тільки ад'ювант, на відповідній тваринній моделі для вирішення конкретних проблем безпеки, пов'язаних із введенням вакцини цими шляхами. Конкретні питання щодо вакцин, які вводяться альтернативними шляхами, що, можливо, доведеться взяти до уваги, розглядаються нижче.

7.4.1. Тваринні моделі

У разі введення вакцин альтернативними шляхами особливу увагу слід приділити анатомії та фізіології ділянки введення вакцини при використанні конкретної обраної тваринної моделі та її доступність для введення вакцини. Наприклад, для вакцин, що вводяться інтраназально, вибрані види тварин в ідеалі повинні бути сприйнятливими до розпилення вакцини. Як правило, кролі та собаки є корисними тестовими моделями для використання спреїв; однак їхні нюхові цибулини мають високий захист і для забезпечення того, щоб досліджуваний лікарський засіб потрапив до цього органу, потрібні спеціальні методи. Хоч миші та щури є корисними моделями, інтраназальне введення у цих видів пов'язане з технічними труднощами. Інтраназальне введення приматам може бути кращим варіантом, якщо вони сприйнятливі до відповідного збудника інфекції.

Залежно від рівня занепокоєння щодо конкретного шляху введення або у разі наявності видових відмінностей між тваринними моделями за їхньою чутливістю до вакцин-кандидатів, може виникнути необхідність оцінки доклінічної безпеки вакцини в більш ніж одному дослідженні безпеки і на більш ніж одній тваринній моделі.

7.4.2. Доза

Оскільки оптимальна доза, отримана в результаті досліджень із використанням парентерального способу введення, може відрізнятися від дози, яка використовується для альтернативного (-их) способу (-ів) введення, можливо, потрібно буде провести дослідження з визначенням дози для конкретного способу введення. Також слід враховувати загальний об'єм введеної вакцини, оскільки це може вплинути на результат дослідження безпеки. Наприклад, інтраназальне введення миші більше 5 мл лікарського засобу на ніздрю призведе до того, що препарат проковтнеться, а не абсорбується слизовою оболонкою носа.

7.4.3. Кінцеві точки

Кінцеві точки токсичності включатимуть ті, що описані в розділі 6, і можуть включати додаткові критерії ефективності, які залежатимуть від способу введення та конкретних проблем, пов'язаних з конкретним шляхом та органом-мішенню. Наприклад, якщо існує занепокоєння щодо можливого попадання компонентів вакцини до мозку після інтраназального введення, будуть необхідні імуногістологія та методи *in situ* та/або неврологічні аналізи та обстеження. Для вакцин, що вводяться інгаляційно, критерії ефективності можуть включати тести легеневої функції та дані про гістопатологію легенів. Необхідно докласти значних зусиль, щоб розробити відповідні методи для вирішення потенційних проблем безпеки, пов'язаних із використанням нових способів введення.

7.4.4. Оцінка імуногенності

Розробка оптимальних аналізів для вимірювання імунної реакції слизової оболонки є критично важливою для вакцин, які, як очікується,

функціонуватимуть як імуногени слизової оболонки, оскільки самі серологічні аналізи можуть не відображати відповідну імунну реакцію на мукозну вакцину. Таким чином, на додаток до вимірювання серологічних реакцій, може бути потрібна оцінка реакцій Т-клітин, клітин, що секретують антитіла, та продукції цитокінів. Крім того, може виникнути потреба в розробці аналізів для оцінки індукції місцевих та системних реакцій у ділянках, віддалених від введення вакцинного антигену.

8. ПЕВНІ МІРКУВАННЯ ЩОДО ОКРЕМИХ ВИДІВ ВАКЦИН

На додаток до стратегій дослідження, викладених у розділах 5, 6 та 7, можуть бути необхідними дослідження для вирішення конкретних питань безпеки, пов'язаних з певними типами лікарських засобів, із використанням відповідних методів дослідження *in vitro* та *in vivo*. Конкретні вимоги до дослідження живих атенуйованих та комбінованих вакцин обговорюються нижче. Детальна інформація щодо виробництва та контролю інших типів вакцин доступна в керівництвах ВООЗ щодо виробництва та контролю [20], і з ними слід ознайомитись. Наприклад, у нещодавно розроблених керівництвах щодо ДНК [23] та синтетичних пептидних вакцин [25, 39], а також щодо певних вакцин, таких як кон'юговані вакцини проти інфекцій, спричинених *Haemophilus* типу b (Hib) [30], обговорюються питання, що стосуються неклінічного дослідження, і їх слід враховувати при розробці відповідного дизайну неклінічного дослідження цієї вакцини.

8.1. Живі атенуйовані вакцини

Оцінка ступеня атенуації та стабільності атенуйованого фенотипу є важливим питанням для програми неклінічного дослідження живої атенуйованої вакцини. Лабораторні маркери атенуації для цього дуже корисні. Ці маркери повинні відрізнити атенуйовану вакцину від повністю вірулентних штамів дикого типу і, в ідеалі, виявляти часткове повернення до повної

вірулентності. Для оцінки стабільності фенотипу атенуації вакцину можна піддавати такій кількості пасажів у виробничих умовах, що перевищує максимальну кількість пасажів, що використовується для виробництва. Стабільність атенуації може оцінюватися при проведенні пасажу в умовах, які не відповідають умовам, що будуть використовуватися для виробництва вакцин. Наприклад, вищі або нижчі температури можуть чинити селекційний тиск на реверсію до вірулентності. Маркер(-и) атенуації згодом може(-уть) використовуватися для кваліфікації системи експресії для нових вакцин та для контролю ефекту будь-яких значних змін у виробничих умовах атенуйованого фенотипу.

Якщо мікроорганізм дикого типу є нейротропним або якщо для послаблення вірусної вакцини використовувались пасажі через нервову тканину, тоді тест на нейровірулентність слід проводити принаймні на рівні системи експресії для вакцини. Тест на нейровірулентність не обов'язково необхідний для всіх живих атенуйованих вакцин. Технічні умови для відповідного нейровірулентного тесту залежать від досліджуваного мікроорганізму і мають відрізнити атенуйовану вакцину від повністю вірулентних штамів дикого типу і, в ідеалі, виявити часткову реверсію до повної вірулентності. Для цього можуть бути потрібні певні референтні препарати. Тести на нейровірулентність на моделях з використанням невеликих тварин можуть бути прийнятними.

Якщо жива атенуйована вакцина базується на генетично модифікованому організмі, то в рамках доклінічної оцінки може бути потрібна оцінка екологічного ризику. Дослідження можливого вивільнення організмів з вакцини після введення сприяють оцінці ризику для довкілля. Для всіх живих атенуйованих вакцин можуть бути потрібні відомості про ймовірність обміну генетичною інформацією з невакцинними штамми, і у зв'язку з цим для отримання даних можуть бути розроблені відповідні неклінічні дослідження.

8.2. Комбіновані вакцини

Комбінації, що є новими за складом або вироблені під час відновлення антигенів або серотипів, слід досліджувати на відповідну імуногенність на тваринній моделі, якщо така є, до початку клінічних випробувань на людях [40, 41]. Комбіновані антигени слід досліджувати за допомогою відповідних фізико-хімічних методів для оцінки можливих змін властивостей антигену у комбінації, наприклад, ступеня адсорбції ад'ювантів алюмінію, а також стабільності комбінації.

Слід проводити оцінку імунної відповіді на кожен з антигенів у вакцині, включаючи якість відповіді, будь-який потенційний взаємний вплив та несумісність між комбінованими антигенами. Бажано вивчати нову комбінацію у порівнянні з окремими антигенами у тварин, щоб визначити, чи відбувається посилення чи послаблення реакції.

Необхідність оцінки безпеки нової комбінації на тваринній моделі слід розглядати у кожному конкретному випадку. Така оцінка, ймовірно, буде необхідною, якщо є побоювання, що поєднання антигенів та/або ад'ювантів може призвести до проблем з токсичністю (наприклад, новий ад'ювант).

Подібні міркування щодо неклінічного дослідження також стосуватимуться випадків, коли розробляється нова однокомпонентна вакцина-кандидат з уже ліцензованої комбінованої вакцини (наприклад, моновалентна пероральна вакцина проти поліомієліту у порівнянні з тривалентною пероральною вакциною проти поліомієліту).

ДОДАТОК А
(обов'язковий)**Перелік тканин, що забираються у дослідженні токсичності при багаторазовому застосуванні препарату**

надниркові залози
аорта
кістка (стегнова кістка) та суглоб
кістка (груднина) з кістковим мозком
мазки кісткового мозку¹
мозок
бронхи (головний стовбур)
сліпа кишка
товста кишка
дванадцятипала кишка
придаток яєчка
очі
серце
клубова кишка
місце(-я) ін'єкції (зразок слід взяти з ділянки ін'єкції)
тонка кишка
нирки та сечоводи
гортань
печінка
легені
лімфатичний вузол (нижньощелепний)
лімфатичний вузол (мезентеріальний)
молочна залоза
стравохід
зорові нерви
яєчники та маточні труби
підшлункова залоза
прищитоподібна залоза
Пейєрові бляшки
гіпофіз
простата
пряма кишка
слинні залози (нижньощелепні, привушні, під'язикові)
сідничні нерви
сім'яні міхурці

¹Мазки кісткового мозку слід приготувати під час планової аутопсії всіх тварин, включаючи всіх агонізуючих тварин, умертвлених під час дослідження. Мазки слід закріпити метанолом, а потім пофарбувати методом Май-Грунвальда – Гімзи.

СТ-Н МОЗУ 42–6.2:2021

скелетні м'язи

шкіра

спинний мозок (шийний відділ, грудний відділ, поперековий відділ)

селезінка

шлунок

яєчка

тимус

щитоподібна залоза

язик

трахея

сечоводи

сечовий міхур

матка (роги + шийка матки)

піхва

всі макроскопічні ураження

ДОДАТОК Б
(довідковий)

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Закон України «Про лікарські засоби».
2. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 № 3447-15.
3. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 14 грудня 2009 року № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України 19.01.2010 за № 53/17348.
4. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. – Лікарські засоби. Належна лабораторна практика/ О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009.
5. ДСТУ 1.5:2015 «Національна стандартизація. Правила розроблення, викладання та оформлення національних нормативних документів»/ Робоча група – Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015.
6. ДСТУ 1.7-2015. – Національна стандартизація. Правила та методи прийняття міжнародних і регіональних нормативних документів – Київ, ДП «Український науково-дослідний і навчальний центр стандартизації, сертифікації та якості», 2015.
7. EMEA/P24143/2004 «Procedure for European Union guidelines and related documents within the pharmaceutical legislative framework, 2005» (Процедура щодо керівництв та супутніх документів Європейського Союзу в рамках фармацевтичного законодавства, 2005).
8. «WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines», World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005, Annex 1» («Керівництва ВООЗ щодо доклінічної оцінки вакцин», Всесвітня організація охорони здоров'я, Серія технічних звітів ВООЗ, № 927, 2005, Додаток 1).
9. WHO/BLG/97.1 «Biological standardization and control. A scientific review commissioned by the UK National Biological Standards Board». Geneva, World Health Organization, 1997. («Біологічна стандартизація та контроль. Науковий

огляд на замовлення Британської національної ради з біологічних стандартів». Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1997).

10. WHO/VRD/BLG/ 97.01 «Biotechnology and world health. Risks and benefits of vaccines and other medical products produced by genetic engineering. Proceedings of a WHO meeting». Geneva, World Health Organization, 1997. («Біотехнології та світове здоров'я: ризики та переваги вакцин та інших медичних виробів, вироблених за допомогою генної інженерії. Матеріали засідання ВООЗ». Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1997).
11. WHO/VSQ/97.04 «WHO Manual of laboratory methods for testing vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization». Geneva, World Health Organization, 1997, Annex 1. («Посібник з лабораторних методів тестування вакцин, що використовуються в Розширеній програмі ВООЗ щодо імунізації». Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1997, Додаток 1).
12. World Health Organization. «Laboratory biosafety manual, 2nd ed. (revised)», Geneva, World Health Organization, 2003. (Всесвітня організація охорони здоров'я. «Посібник з лабораторної біобезпеки, друге видання (перероблене)», Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 2003).
13. ENV/MC/ CHEM (98) 17«OECD principles on Good Laboratory Practice (revised 1997)». Paris, Organisation for Economic Co-operation and Development, 1997. («Організація економічного співробітництва та розвитку. Принципи належної лабораторної практики (переглянуті 1997)». Париж, Організація економічного співробітництва та розвитку, 1997).
14. «Good manufacturing practices for biological products». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-second Report. Geneva, World Health Organization, 1992 (WHO Technical Report Series, No. 822): 20–30. («Належна виробнича практика для біопрепаратів». Комітет експертів ВООЗ з біологічної стандартизації. Сорок другий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1992 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 822): 20–30)).
15. Good manufacturing practice: supplementary guidelines for the manufacture of the investigational pharmaceutical products for clinical trials in humans. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: Thirty-Fourth Report. Geneva, World Health Organization, 1996, Annex 7 (WHO Technical Report. Series, No. 863). («Належна виробнича практика: додаткові

вказівки щодо виготовлення досліджуваних фармацевтичних продуктів для клінічних випробувань на людях». У: Комітет експертів ВООЗ зі специфікацій фармацевтичних препаратів: тридцять четвертий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1996, Додаток 7 (Технічний звіт ВООЗ. Серія, № 863)).

16. «Good manufacturing practices for pharmaceutical products». In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-second 6952 ESE TEXT 58 8/21/05, 10:57 59 E Report. Geneva, World Health Organization, 1992 Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 823). («Належна виробнича практика: додаткові настанови щодо виготовлення досліджуваних фармацевтичних продуктів для клінічних випробувань на людях». Комітет експертів ВООЗ зі специфікацій фармацевтичних препаратів: тридцять четвертий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1996, Додаток 7 (Технічний звіт ВООЗ. Серія, № 863)).
17. CPMP/BWP/3207/00 «Note for guidance on comparability of medicinal products containing biotechnology-derived proteins as drug substance». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000. («Примітка щодо керівництва щодо порівнянності лікарських засобів, що містять білки, отримані з біотехнологій, як лікарську речовину». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 2000).
18. European Commission Regulations No. 541/95, 542/95, 1146/98 and 1069/ 98. (Регламенти Комісії (ЄС) № 541/95 та 542/95 із змінами, внесеними Регламентом Комісії (ЄС) 1146/98 та 1069/98. Подальше пояснення: посібник з вимог до досьє для варіацій типу I. Брюссель, Бельгія: комісія ЄК; Листопад 1999).
19. Griffiths E. «Efficacy of whole-cell pertussis vaccine». In: Wardlaw AC, Parton R, eds. «Pathogenesis and immunity in pertussis». Chichester, Wiley, 1988: 353–374. (Griffiths E. «Ефективність цілюноклітинної вакцини проти кашлюку». У: Wardlaw AC, Parton R, ред. «Патогенез та імунітет при кашлюку». Чічестер, 1988, Уайлі, 1988: с. 353–374).
20. «Recommendations and guidelines for biological substances used in medicine and other documents». Geneva, World Health Organization, 2002 (WHO Technical Report Series, No. 910):99–102. («Огляд рекомендацій та керівництв щодо біологічних речовин, що використовуються в медицині, та інших

документів». Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 2002 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 910): 99–102).

21. «Requirements for the use of animal cells as in vitro substrates for the production of biologicals». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seventh Report. Geneva, World Health Organization, 1998, Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 878). («Вимоги до використання клітин тварин як субстратів in vitro для виробництва біологічних препаратів». В: комітет експертів ВООЗ з біологічної стандартизації. Сорок сьомий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1998, Додаток 1 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 878)).
22. WHO/BCT/QSD/03.01 «Guidelines on transmissible spongiform encephalopathies in relation to biological and pharmaceutical products». Geneva, World Health Organization, 2003 («Настанови щодо трансмісивних спонгіформних енцефалопатій щодо біологічних та фармацевтичних продуктів» Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 2003).
23. «Guidelines for assuring quality of DNA vaccines». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-seventh Report. Geneva, World Health Organization, 1998, Annex 3 (WHO Technical Report Series, No. 878). («Вказівки щодо забезпечення якості ДНК-вакцин». Комітет експертів ВООЗ з біологічної стандартизації. Сорок сьомий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1998, Додаток 3).
24. «Guidelines for assuring the quality of pharmaceutical and biological products prepared by recombinant DNA technology». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-first Report. Geneva, World Health Organization, 1991, Annex 3 (WHO Technical Report Series, No. 814). («Вказівки щодо забезпечення якості фармацевтичних та біологічних продуктів, приготованих за технологією рекомбінантної ДНК». В: комітет експертів ВООЗ з біологічної стандартизації. Сорок перший звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1991, Додаток 3 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 814)).
25. «Guidelines for the production and quality control of synthetic peptide vaccines». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-eighth Report. Geneva, World Health Organization, 1999, Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 889). («Керівництво з виробництва та контролю якості синтетичних пептидних вакцин». В: комітет експертів ВООЗ з біологічної

стандартизації. Сорок восьмий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 1999, Додаток 1 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 889)).

26. «Guidance for industry: content and format of chemistry, manufacturing and controls information and establishment description information for a vaccine or related product». Federal Register, 1999, 2:518–519 (Center for Biologics Evaluation and Research, US Food and Drug Administration). («Керівництво для промисловості: зміст та формат хімічної, виробничої та контрольної інформації та інформація про опис установок для вакцини або супутнього продукту». Федеральний реєстр, 1999, 2: 518–519 (Центр оцінки та досліджень біологічних препаратів, управління з контролю за продуктами та ліками США).
27. CPMP/SWP/1042/99 «Note for guidance on repeated dose toxicity». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1999. («Примітка щодо вказівки щодо токсичності повторних доз». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 1999).
28. CPMP/SWP/2145/00 «Note for guidance on non-clinical local tolerance testing of medicinal products». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000. («Примітка щодо керівництва з неклінічного тестування на місцеву толерантність лікарських засобів». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 2000).
29. Wraith DC, Goldman M, Lambert PH. «Vaccination and autoimmune disease: what is the evidence?» Lancet, 2003, 362:1659–1666. (Wraith DC, Goldman M, Lambert PH «Вакцинація та аутоімунні захворювання: що є доказами?» Ланцет, 2003, 362:1659–1666).
30. «Recommendations for Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines». In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Forty-ninth Report. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No. 897). («Рекомендації щодо кон'югованих вакцин проти гемофільної палички типу b». В: Експертний комітет ВООЗ з біологічної стандартизації. Сорок дев'ятий звіт. Женева, Всесвітня організація охорони здоров'я, 2000 (Серія технічних звітів ВООЗ, № 897)).
31. CPMP/ICH/386/95 «Note for guidance for reproductive toxicology: detection of toxicity to reproduction for medicinal products». London, Committee for Proprietary Medicinal Products. («Примітка щодо вказівки щодо

репродуктивної токсикології: виявлення токсичності для репродукції для лікарських засобів». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів).

32. CPMP/ICH/174/95 «Note for guidance on genotoxicity: a standard battery for genotoxicity testing of pharmaceuticals». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1995 («Примітка для керівництва з генотоксичності: стандартна батарея для тестування генотоксичності фармацевтичних препаратів», Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 1995).

33. CPMP/ICH/539/00 «Note for guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals». London, Committee for Proprietary Medicinal Products («Примітка для керівництва з дослідження фармакології безпеки для фармацевтичних препаратів для людей». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів).

34. ICH M3(R2) (CPMP / ICH / 286/95modification) «Nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2000 («Неклінічні дослідження безпеки для проведення клінічних випробувань на людях для фармацевтичних препаратів». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 2000).

35. «Guidance for industry: nonclinical studies for development of pharmaceutical excipients». Draft. FDA. USA. September 2002. («Керівництво для промисловості: неклінічні дослідження з розробки фармацевтичних допоміжних речовин». Чернетка. Управління з продовольства і медикаментів США. Вересень 2002).

36. CPMP/QWP/419/03 «Note for guidance on excipients, antioxidants and antimicrobial preservatives in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 2003 («Примітки щодо вказівки щодо допоміжних речовин, антиоксидантів та антимікробних консервантів у досьє для подання заявки на реєстрацію лікарського засобу». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 2003).

37. CPMP/SWP/465/95 «Note for guidance on preclinical pharmacological and toxicological testing of vaccines». London, Committee for Proprietary Medicinal Products, 1998 («Примітка щодо доклінічних, фармакологічних та

токсикологічних випробувань вакцин». Лондон, комітет патентованих лікарських засобів, 1998).

38. Goldenthal KL, Cavagnaro JA, Alving CR, Vogel FR. «Safety evaluation of vaccine adjuvants: National Cooperative Vaccine Development Meeting Working Group». *AIDS Research and Human Retroviruses*, 1993, 9(suppl 1):S47–S51. (Goldenthal KL, Cavagnaro JA, Alving CR, Vogel FR. «Оцінка безпеки вакцинних ад'ювантів: національна спільна робоча група з питань розвитку вакцин». *Дослідження СНІДу та ретровірусів людини*, 1993, 9 (додаток 1): 47 – 51).
39. «Guidance for industry for the submission of chemistry, manufacturing, and controls information for synthetic peptide substances». Center for Drug Evaluation and Research and Center for Biologics Evaluation and Research, 1994. («Керівництво для промисловості щодо подання інформації про хімію, виробництво та контроль щодо синтетичних пептидних речовин». Центр оцінки та досліджень лікарських засобів та Центр оцінки та досліджень біологічних препаратів, 1994.)
40. Verdier F, Patriarca C, Descotes J. «Autoantibodies in conventional toxicity testing». *Toxicology*, 1997, 119:51–58. 6952 ECE TEXT 60 8/21/05, 10:57 61 E (Verdier F, Patriarca C, Descotes J. «Аутоантитіла при звичайному тестуванні токсичності». *Токсикологія*, 1997, 119: 51–58).
41. «Guidance for industry for the evaluation of combination vaccines for preventable diseases: production, testing and clinical studies». US Food and Drug Administration, 1997. («Керівництво для промисловості для оцінки комбінованих вакцин для запобігання захворюванням: виробництво, тестування та клінічні дослідження». Управління з продовольства і медикаментів США, 1997).

Ключові слова: доклінічні дослідження, клінічні випробування, вакцини, імуногенність, токсичність