

## ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

### 5.2.6 Оценка безопасности вакцин, иммунных сывороток и глобулинов для ветеринарного применения

Настоящая общая фармакопейная статья устанавливает требования и критерии для оценки безопасности вакцин, иммунных сывороток и глобулинов для ветеринарного применения, обязательные при проведении доклинических (лабораторных) и клинических (полевых) испытаний при разработке препаратов.

#### ТРЕБОВАНИЯ К ЖИВОТНЫМ

**Животные, используемые для испытания вакцин.** При разработке вакцины исследования проводятся на животных тех видов, для которых она предназначена.

Иммунный статус животных, используемых для определения безопасности, указывается в фармакопейных статьях и в нормативных документах по качеству.

Используемые животные должны принадлежать к одной из трех следующих категорий:

- 1) животные, не содержащие антитела к вирусу/бактерии/грибам/токсину и т.д., которые содержатся в испытуемой вакцине;
- 2) животные с низким уровнем антител;
- 3) животные, не вакцинированные против заболевания, профилактируемого испытуемой вакциной.

Для испытания живых вакцин используют животных 1 категории.

Для других вакцин, в первую очередь инактивированных, используют животных 2 и 3 категорий, но в случае доступности - животных 1 категории.

Исследование безопасности вакцин против заболеваний птиц проводится на здоровых цыплятах, за исключением вакцин, которые не рекомендуется использовать на цыплятах; в таком случае, исследование проводят на одном из видов птиц, для которых эта вакцина рекомендуется и

которые не должны содержать антител против возбудителя болезни, профилактируемой данной вакциной.

**Вакцины.** В описании лабораторных испытаний «доза» означает количество препарата, рекомендованное для применения и имеющее максимальный титр или активность, которые должны содержаться в производственных сериях.

Живые вакцины получают только из штаммов микроорганизмов, безопасность которых была подтверждена.

Для испытания живых вакцин используется серия или серии вакцины, содержащая вирусы/бактерии/грибы, такого же уровня аттенуации (пассажа), что и серийная вакцина.

При оценке комбинированных вакцин, содержащих живые компоненты, подтверждается безопасность каждого вакцинного штамма в отдельности.

Для инактивированных вакцин исследование безопасности, проведенное на комбинированной вакцине, могут считаться достаточным для подтверждения безопасности отдельных компонентов.

**Иммуные сыворотки и глобулины.** В описании лабораторных испытаний «доза» означает максимальное количество препарата, рекомендованное для применения, обладающее максимальной активностью и содержащее наибольшее количество общего белка или иммуноглобулина, которое может содержаться в производственных сериях.

Испытания, описанные ниже, или дополненные испытаниями, приведенными в разделе «Производство» соответствующей фармакопейной статьи, могут быть проведены в рамках испытаний, необходимых для подтверждения безопасности препарата во время его разработки.

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

**Безопасность применения одной дозы.** Для каждого из рекомендуемых способов применения (введения) восприимчивым животным каждого вида и категории, для которых предназначена вакцина, вводится одна доза препарата.

Группы испытуемых животных комплектуются животными самого раннего возраста, при котором рекомендуется применение препарата, и, если применимо, беременными животными.

Для испытания вакцин, предназначенных для млекопитающих, используется не менее 8 животных в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для птиц старше 3 недель, используется не менее 8 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для иммунизации птиц младше 3 недель, используется не менее 10 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин против болезней рыб, вводимых иммерсионным путем, рыб погружают в разведенную вакцину в двойной рекомендованной концентрации и выдерживают в течение удвоенной рекомендованной экспозиции.

В группе должно быть не менее 50 рыб, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

За животными и рыбами наблюдают ежедневно и обследуют их на наличие признаков патологических местных и системных реакций.

При необходимости, в случае гибели животных или рыб, возможно проведение макроскопических и микроскопических испытаний.

Регистрируются другие объективные показатели, такие как температура тела (у млекопитающих), и поведенческие реакции. Температура тела регистрируется за один день до введения препарата, непосредственно перед введением препарата, спустя 4 часа после введения и в последующие 4 дня. За животными и рыбами наблюдают ежедневно в течение не менее 14 дней после введения препарата. Вакцину считают выдержавшей испытание при отсутствии у всех животных проявления патологической местной или системной реакции, или признаков заболевания, или смерти от причин,

относящихся к применению вакцины, если в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству нет других указаний или в случае их отсутствия, а также при отсутствии других предписаний.

**Безопасность однократного введения повышенной дозы.** Повышенная доза продукта вводится каждым из рекомендуемых способов применения препарата животным с предположительно повышенной восприимчивостью, например, молодым или беременным. Если было установлено, что наиболее тяжелые последствия вызывает только один из способов введения, то именно он используется в исследовании.

Повышенная доза живой вакцины обычно составляет 10 доз. Для лиофилизированных живых вакцин 10 доз должны быть разведены в подходящем для введения объеме разбавителя. Для инактивированных вакцин повышенная доза обычно составляет 2 дозы препарата.

Для испытания вакцин, предназначенных для млекопитающих, используется не менее 8 животных в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для птиц старше 3 недель, используется не менее 8 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для птиц младше 3 недель, используется не менее 10 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для рыб, используется не менее 50 рыб, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

За животным и рыбами наблюдают ежедневно и исключают наличие признаков патологических местных и системных реакций. Регистрируются другие объективные показатели, такие как температура тела (у млекопитающих) и поведенческие реакции. За животными и рыбами наблюдают не менее 14 дней после введения препарата.

Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству или в случае отсутствия их, а также при отсутствии других предписаний, вакцину считают выдержавшей испытание, если ни у одного животного или рыбы не проявляется патологической местной или системной реакции, или признаков заболевания, или смерти по причинам, связанным с применением вакцины.

**Безопасность повторного введения одной дозы.** Выявление нежелательных реакций при повторном введении может потребоваться при испытании препаратов, в частности, иммунных сывороток и глобулинов, которые могут вводиться периодически в течение относительно короткого промежутка времени. Испытания проводятся на наиболее восприимчивой целевой категории животных с использованием всех рекомендуемых путей введения. Если было продемонстрировано, что особо тяжелые последствия вызывает только один из путей введения, то используется именно такой способ. Количество введений должно быть не меньше, чем максимально рекомендуемое; при испытании вакцин учитывается количество введений для первичной вакцинации и 1-й ревакцинации; при испытании иммунных сывороток - количество введений, требуемых для лечения.

Интервал между введениями должен соответствовать рекомендациям по применению. При испытании вакцин интервал между введениями может быть более коротким, чем рекомендуется; для исключения любой реакции гиперчувствительности интервал должен составлять не менее 14 дней.

При испытании иммунных сывороток интервал между введениями должен соответствовать рекомендациям по применению.

Для испытания вакцин, предназначенных для млекопитающих, в общем случае используется не менее 8 животных в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для использования у птиц старше 3 недель, используется не менее 8 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для использования у птиц младше 3 недель, в общем случае используется не менее 10 птиц в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

Для испытания вакцин, предназначенных для рыб, используется не менее 50 рыб, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству.

В течение 14 дней после последнего введения препаратов за животными наблюдают ежедневно и исключают наличие местных и системных реакций. Регистрируются другие объективные показатели, такие как температура тела (у млекопитающих), и поведенческие реакции. Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству или, в случае отсутствия их, если нет других предписаний, вакцины считают выдержавшими испытание, если ни у одного животного не проявляется патологической местной или системной реакции.

**Исследование влияния на репродуктивную функцию.** Если рекомендовано или вакцина может быть использована для беременных животных или несущих яйца птиц, исследование безопасности должно проводиться на животных данной категории.

Если исследование безопасности для репродуктивной функции не проводилось и не представлены научные обоснования отсутствия такого риска, на этикетке и (или) в инструкции по применению препарата должно быть соответствующее предупреждающее указание о риске его применения для беременных животных. Исследование безопасности для репродуктивной функции должно быть проведено, если имеются данные о том, что действующее вещество препарата может являться фактором риска.

Если для испытуемого препарата указано несколько способов введения, рекомендуется провести введение всеми рекомендуемыми способами. Если известно, что особо тяжелые последствия вызывает только один из способов введения, то именно такой способ введения используется при испытании.

Для вакцин, предназначенных для млекопитающих, используется не менее 8 животных в группе, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству. Вакцины, рекомендуемые или разрешенные для использования у беременных животных, исследуются в течение каждого охарактеризованного периода беременности, при котором допускается их использование. Если исследования не проводились в некоторые периоды беременности, в инструкции по применению должно быть соответствующее предупреждающее указание.

Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству, период наблюдения продолжается до родов для исключения любого неблагоприятного воздействия на беременных животных или на потомство.

В качестве примера представлен следующий порядок и условия проведения испытания по безопасности применения вакцин у беременных животных. Для испытания используют не менее 8 животных в группе на каждой рекомендуемой стадии беременности (то есть 24 животных на 3 триместра беременности). Каждому животному вводится рекомендованная доза вакцины. При необходимости, следующая доза вакцины вводится с интервалом не менее 14 дней. Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству, за животными наблюдают ежедневно до первого дня после родов. Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству или, в случае их отсутствия, если нет других предписаний, вакцину считают выдержавшей испытание, если ни у одного животного не проявляется патологической местной или системной реакции, или признаков болезни, или смерти от причин, обусловленных применением вакцины, и, если не отмечено

нежелательных проявлений в период беременности или воздействия на потомство.

**Остаточные микроорганизмы.** Для живых вакцин против зоонозных болезней дополнительно к определению диссеминации вакцинного штамма в организме животного может потребоваться определение наличия остаточных микроорганизмов в месте введения.

**Нежелательные воздействия на иммунологические функции.** Если вакцина может оказывать нежелательное действие на иммунный ответ у вакцинированного животного или у его потомства, необходимо провести соответствующие исследования иммунного ответа.

**Нежелательные эффекты при взаимодействии препаратов.** Исследования проводятся с целью исключения нежелательных клинических проявлений, обусловленных взаимодействием препаратов, при наличии рекомендаций об одновременном введении или о включении препарата в схему применения других препаратов в течение короткого периода времени.

**Особые требования к живым вакцинам.** Для испытаний живых вакцин, за исключением оценки повышения вирулентности, используют культуру вакцинного штамма такого же уровня аттенуации, что и у главного посевного материала и серийной вакцины.

**Миграция вакцинного штамма.** Миграция вакцинного штамма от вакцинированных к не вакцинированным животным видам, для которых предназначена вакцина, исследуется с применением рекомендуемого способа введения вакцины. Определение миграции вакцинного штамма может быть выполнено с использованием животных других видов, для которых вакцина не предназначена. Должно быть определено возможное количество миграций вакцинного штамма от животного к животному в обычных условиях, а также оценка возможных последствий миграции.

**Диссеминация вакцинного штамма в организме вакцинированного животного.** Для определения диссеминации проводится исследование мочи, молока, яиц, выделений из ротовой и носовой полости, экскрементов на

наличие в них культуры вакцинного штамма. Для оценки продолжительности бактериемии исследуется кровь. Возможно исследование приживаемости вакцинного штамма в тканях организма животного (паренхиматозные органы, лимфатические узлы, семенники, костный мозг и пр.), к которым он имеет тропизм и в которых может размножаться и сохраняться продолжительное время.

Для живых вакцин против инфекционных болезней сельскохозяйственных животных такие исследования обязательны.

**Повышение вирулентности.** Если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству или, в случае отсутствия их, если нет других предписаний, испытание проводится с использованием главного посевного материала. В случае отсутствия достаточного количества главного посевного материала для работы может быть использован материал следующего пассажа, который был использован для производства продукта. В испытании используются животные соответствующего возраста, предрасположенные к инфицированию. Если это известно, то в опыте, используются животные конкретного возраста.

Серийные пассажи проводятся с использованием 5 групп целевых животных, если указаний по проведению большего количества пассажей нет или в случае, когда штамм элиминируется из организма раньше. Размножение культуры штамма *in vitro* не может быть использовано с целью увеличения дозы инокулята для пассажа. Пассажи проводятся с использованием животных, наиболее подходящих для оценки потенциального риска.

Первичная вакцинация проводится рекомендуемым путем введения, при котором имеется наибольшая вероятность повышения вирулентности, с использованием начального посевного материала с наибольшим титром. После этого осуществляется не менее 4 последовательных пассажей через животных-мишеней. Если свойства вакцинного штамма позволяют провести последовательный пассаж через естественный путь передачи, может быть

использован этот способ, в противном случае пассаж выполняется в соответствии с описанием, приведенном в каждой фармакопейной статье, и максимально пассированный вакцинный штамм, который был выделен из организма животного, проверяется на повышение вирулентности.

При пассировании вакцинного штамма для изготовления вакцин для млекопитающих в каждой из первых четырех групп должно быть не менее 2 животных, для изготовления вакцин для птиц - не менее 5 птиц.

Пятая группа состоит из не менее 8 млекопитающих или 10 птиц.

При каждом пассаже подтверждается наличие живой культуры вакцинного штамма во вводимом материале. Необходимо предупреждать контаминацию выделенной при последнем пассаже культуры, культурами предыдущих пассажей.

Если культура вакцинного штамма не выделяется из любого промежуточного *in vivo* пассажа, проводят пассаж на 10 животных с использованием полученной *in vivo* культуры штамма последнего результативного пассажа. Выделенная культура штамма используется для следующего пассажа. Если культура вакцинного штамма при данном пассаже не выделяется, исследование считается завершенным. При этом считается, что штамм не проявляет тенденции к повышению вирулентности.

В течение исследования проводятся общие клинические наблюдения. Животные последней группы наблюдаются в течение 21 дня, если нет других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству. Такие наблюдения включают оценку всех значимых показателей, типичных для соответствующей болезни, и свидетельствующих о повышении вирулентности вакцинного штамма. Сравнивают клинические проявления и другие значимые показатели с таковыми, наблюдаемыми у животных, использованных в испытании безопасности применения одной дозы препарата.

Если в последней группе животных нет признаков повышения вирулентности, продолжение испытания не требуется.

В ином случае, культура штамма первого пассажа и культура штамма выделенная на последнем пассаже испытываются в раздельном опыте, соответственно, с содержанием в каждой группе не менее 8 млекопитающих животных или не менее 10 птиц, с целью прямого сравнения клинических проявлений и других значимых показателей. Испытание проводится с использованием того же способа введения культур штаммов, что и при проведении предыдущего пассажа. Если утверждено, может быть использован альтернативный путь введения.

При отсутствии других указаний в фармакопейной статье и в нормативном документе по качеству, если ни одно животное не погибло или не проявило симптомов, обусловленных вакцинным штаммом, его считают выдержавшим испытание.

**Биологические свойства вакцинного штамма.** Для более точного определения присущих вакцинному штамму биологических свойств могут потребоваться другие испытания (например, нейротропности). Для векторных вакцин проводится оценка риска изменения тропизма или вирулентности штамма и, при необходимости, специфические испытания. Такие испытания проводятся систематически, если в штамм в качестве структурного протеина включается посторонний генный продукт.

**Рекомбинация или геномная перестройка вакцинного штамма.** Следует учитывать вероятность рекомбинации или геномной перестройки вакцинного штамма при взаимодействии с другими вакцинными штаммами.

## ПОЛЕВЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Результаты лабораторных исследований препаратов должны подтверждаться данными полевых испытаний. При условии подтверждения безопасности и эффективности препарата в ходе лабораторных испытаний, для оценки безопасности и эффективности в полевых условиях допускается использование одной серия препарата. Это может быть обычная типичная серия препарата со средними показателями специфической активности.

При испытании на сельскохозяйственных (целевых) животных проводят измерение температуры тела у достаточного количества животных до и после введения препарата; у других млекопитающих животных такие измерения проводят, если результаты лабораторных исследований указывают на вероятность развития поствакцинальных реакций.

В период наблюдения за животными после введения препарата регистрируют, с указанием размеров и продолжительности проявления любых местных реакций, и количество животных, у которых выявлены местные или системные реакции.

Если возможно, оценивают зоотехнические показатели, характеризующие состояние животных. Например, определяют: еженедельную смертность бройлеров; коэффициент конверсии корма; возраст и вес животных при убое; отклонения и брак, выявляемые в процессе переработки.

У вакцин, предназначенных для иммунизации птиц в период яйцекладки или птиц, которых содержат для несения яиц, изучают влияние вакцины на яйцекладку и высиживание птенцов.

## ЭКОТОКСИЧНОСТЬ

Проводится оценка возможного вредного воздействия препарата на живые и неживые объекты окружающей среды, и определяются необходимые предупредительные меры для уменьшения такого риска. При оценке вероятной степени воздействия вакцины на живые и неживые объекты окружающей среду учитывают: вид животных-мишеней и способ применения препарата; выведение препарата во внешнюю среду; уничтожение неиспользованного продукта и пр.

Если анализ и оценка перечисленных факторы указывают на то, что препарат может оказать значительное негативное воздействие на живые и неживые объекты окружающей среды, то проводится оценка потенциальной экотоксичности препарата с учетом его свойств.