

ISSN 2221-996X (Print)
ISSN 2619-1156 (Online)

БИО

ПРЕПАРАТЫ

ПРОФИЛАКТИКА, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ

BIOLOGICAL PRODUCTS.
PREVENTION, DIAGNOSIS, TREATMENT

Том / Volume

25

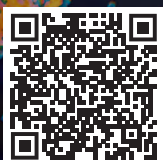
№ / No.

1

2025

ТЕМА НОМЕРА

**Клинические исследования вакцин
и реальная клиническая практика**



www.biopreparations.ru



Уважаемые коллеги!

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, вакцинация ежегодно спасает от 2 до 3 миллионов жизней во всем мире. При этом остается целый ряд вызовов — новые и возвращающиеся инфекционные заболевания, социально значимые инфекции, совершенствование уже имеющихся вакцин и др., которые требуют проведения многоуровневых исследований:

- научный поиск (выбор/конструирование протективных антигенов);
- доклинические исследования (животные модели инфекций, эксперименты по определению защитной эффективности и исследования безопасности);
- клинические исследования безопасности и эффективности препарата (с участием добровольцев/пациентов).

При этом именно клинические исследования являются самым ответственным и ресурсоемким этапом разработки лекарственных препаратов. Большая часть неудач в создании и регистрации новых иммуно-

биологических препаратов приходится именно на стадию клинических исследований. Поэтому планирование клинических исследований необходимо начинать на более ранних этапах создания препарата, а именно, со стадии доклинических исследований.

Важной частью успеха является выбор адекватной инфекционной животной модели и подбор безопасной и эффективной дозы с учетом того, что скорость и уровень иммунных реакций у грызунов и даже у немышиных приматов (игрунки, макаки, мартышки) существенно отличаются от таковых у человека. Также ключевыми моментами являются проработка вопросов этики проведения клинических исследований, правильное определение объема выборки (с учетом статистической гипотезы), учет возможности и особенностей применения препарата в отношении особых популяций (дети, пожилые люди, беременные, лица с ослабленным иммунитетом) и др.

Данный выпуск журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» посвящен одной из самых актуальных и значимых тем — клиническим исследованиям вакцин.

В номере представлены статьи, посвященные разработке и изучению вакцин против гриппа А и коклюша, рассматриваются вопросы опыта применения вакцин против ветряной оспы, а также «эволюция» АКДС-вакцин, освещены регуляторные вопросы по фармакопейной стандартизации биологических лекарственных препаратов. Также в номере представлены результаты использования неканонических однодоменных антител (полученных на основе одноцепочечных антител, типичных для семейства Верблюдовых) для терапии ботулизма. Считаю, что представленные в номере материалы найдут отклик среди исследователей и специалистов в области медицины.

С уважением,
доктор биологических наук, академик РАН

ЛОГУНОВ Денис Юрьевич

BIOLOGICAL PRODUCTS. PREVENTION, DIAGNOSIS, TREATMENT

Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie

ТОМ 25, № 1, 2025

Научно-практический журнал
Выходит ежеквартально (четыре выпуска в год)
Основан в 2001 году

Учредитель:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

Журнал входит в «Белый список» научных журналов и Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук. Журнал принимает статьи по следующим научным специальностям: биотехнология, молекулярная биология, вирусология, микробиология, аллергология и иммунология.

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 0,860.

Журнал индексируется в базах данных: Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Russian Science Citation Index (RSCI), RUSMED, Chemical Abstract Service (CAS), BASE, NLM каталог, DOAJ, Ulrichsweb и др.

Плата за публикацию статей и рецензирование рукописей не взимается.

Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International CC BY 4.0.

VOLUME 25, NO. 1, 2025

Research and practice journal
Published quarterly (four issues per year)
Founded in 2001

Founder:

Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation (Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products)

The journal is included in the White list of Russian scientific journals and the List of peer-reviewed scientific publications that the State Commission for Academic Degrees and Titles recommends for publishing the main scientific results of theses for Candidate of Science and Doctor of Science degrees. Articles submitted to the journal should cover the following fields of research: biotechnology, molecular biology, virology, microbiology, allergology and immunology.

The journal's two-year RISC impact factor is 0.860.

The journal is indexed in the following databases: Russian Index of Science Citation (RISC), Russian Science Citation Index (RSCI), RUSMED, Chemical Abstract Service (CAS), BASE, NLM Catalog, DOAJ, Ulrichsweb, etc.

There is no fee for publishing articles and reviewing manuscripts.

The content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International licence (CC BY 4.0).

На обложке: В-клетки продуцируют антитела, специфичные к вирусу гриппа (лицензированное изображение фотобанка ООО «Фотодженика» <https://photogenica.ru/zoom/PHX324220860/>)

Cover image: B-cells producing influenza virus-specific antibodies (a licensed image from the Photogenica image bank <https://photogenica.ru/zoom/PHX324220860/>)

Главный редактор

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва, Россия)

Заместители главного редактора

Игнатьев Георгий Михайлович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Москва, Россия)

Хаитов Муса Рахимович, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАН, ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России (Москва, Россия)

Ответственный секретарь

Гойкалова Ольга Юрьевна, канд. биол. наук, доц., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

В журнале публикуются обзорные, оригинальные, дискуссионные статьи по вопросам разработки регуляторных процедур, стандартизации, контроля качества, производства и применения терапевтических, профилактических и диагностических биологических лекарственных препаратов – иммунобиологических, биотехнологических, генотерапевтических и лекарственных препаратов, полученных из плазмы крови человека и животных; а также различных групп иммуномодулирующих лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов.

Редакционная коллегия

Авдеева Жанна Ильдаровна, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Агафонов Александр Петрович, д-р биол. наук, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия)

Акоста Бас Кармен, PhD, проф., Латиноамериканский институт биотехнологий «Мечников» (Манагуа, Никарагуа)

Аракелов Сергей Александрович, канд. биол. наук, ФГУП «СПбНИИВС» ФМБА России (Санкт-Петербург, Россия)

Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, проф., ФГБУ «ЦСП» ФМБА России (Москва, Россия)

Борисевич Игорь Владимирович, д-р мед. наук, проф., ФМБА России (Москва, Россия)

Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (Сергиев Посад, Московская область, Россия)

Брико Николай Иванович, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Москва, Россия)

Валента Рудольф, MD, проф., Венский медицинский университет (Вена, Австрия)

Гасич Елена Леонидовна, д-р биол. наук, доц., ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (Минск, Республика Беларусь)

Гончаров Андрей Евгеньевич, канд. мед. наук, доц., ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» (Минск, Республика Беларусь)

Гинцбург Александр Леонидович, д-р биол. наук, проф., академик РАН, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)

Дмитриев Игорь Павлович, канд. биол. наук, Университет Вашингтона в Сент-Луисе (Сент-Луис, штат Миссури, США)

Иванов Вячеслав Борисович, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия)

Климов Владимир Иванович, канд. мед. наук, ст. науч. сотр., ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Коровкин Алексей Сергеевич, канд. мед. наук (Москва, Россия)

Лакота Ян, д-р мед. наук, Институт нормальной и патологической физиологии Центра экспериментальной медицины Словацкой академии наук (Братислава, Словакия)

Логунов Денис Юрьевич, д-р биол. наук, академик РАН, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)

Мельникова Екатерина Валерьевна, канд. биол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Миронов Александр Николаевич, д-р мед. наук, проф., ООО «Национальное агентство лекарственных средств» (Москва, Россия)

Мовсесянц Арташес Авакович, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия)

Мосягин Вячеслав Дмитриевич, д-р мед. наук, проф. (Москва, Россия)

Смит Елена, канд. биол. наук, Центр передовых мРНК-технологий Санофи (Бостон, штат Массачусетс, США)

Фадейкина Ольга Васильевна, канд. биол. наук, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (Москва, Россия)

Хамитов Равиль Авгатович, д-р мед. наук, проф., АО «Генериум» (пос. Вольгинский, Владимирская область, Россия)

Шустов Александр Вячеславович, канд. биол. наук, Национальный центр биотехнологии (Астана, Казахстан)

Учредитель и издатель

ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

Шеф-редактор

Федотова Ольга Федоровна
+7 (495) 121-06-00 (доб. 63-05)
Fedotovaof@expmed.ru

**Ответственный редактор
тематического выпуска**

Логунов Денис Юрьевич,
д-р биол. наук, акад. РАН

Научные редакторы

Гуасова Надежда Вадимовна,
канд. биол. наук
Ершов Павел Викторович,
канд. биол. наук

Редактор перевода

Балтина Любовь Александровна

Менеджер по развитию

Мжельский Александр Анатольевич

Адрес учредителя и редакции

127051, Москва,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2
тел.: +7 (499) 190-18-18
(доб. 63-42, 63-02, 63-35)
biopreparaty@expmed.ru

Исполнитель

ООО «НЭИКОН ИСП»: 115114, Москва,
ул. Летниковская, д. 4, стр. 5

Типография

ООО «Издательство «Триада»: 170034,
Тверь, пр. Чайковского, д. 9, оф. 514

Тираж

100 экз. Цена свободная

Подписано в печать

28.03.2025

Дата выхода в свет

09.04.2025

Подписной индекс

в каталоге «Пресса России» — 57941,
в каталоге агентства «Урал-Пресс» —
57941

Журнал зарегистрирован в Федераль-
ной службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массо-
вых коммуникаций. Свидетельство
ПИ № ФС77-82918 от 14 марта 2022 г.

© Составление. Оформление.
ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России,
2025

СОДЕРЖАНИЕ

Тема номера:

**КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИН
И РЕАЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА**

М.М. Шмаров, С.В. Алексеева, Н.А. Довженко, А.С. Банделюк,
И.Б. Есмагамбетов, Д.Н. Щербинин, Л.В. Верховская,
С.В. Волчихина, Я.В. Симакова, В.Ф. Бабира, Д.Ю. Логунов,
А.Л. Гинцбург

**Безопасность, реактогенность и иммуногенность
векторной вакцины против гриппа А:
открытое клиническое исследование I фазы 7**

А.А. Лиджиева, А.Ю. Медкова, С.В. Куликов, Л.Н. Синяшина,
Р.А. Сюндюкова, И.Н. Чернышова, М.В. Гаврилова, К.К. Бушкова,
Н.А. Снегирева, И.Н. Дьяков, Г.И. Каратаев

**Иммуногенность «ГамЖВК, живой вакцины интраназального
применения для профилактики коклюша» у взрослых
добровольцев: слепое рандомизированное плацебо-
контролируемое исследование по оптимизации метода
и схемы введения 22**

А.С. Коровкин, Д.В. Горенков, А.А. Солдатов, В.А. Меркулов
**Опыт применения вакцин для профилактики ветряной оспы
в мире и перспективы для Российской Федерации 37**

Е.И. Комаровская, О.В. Проскурина
Столбняк у непривитых лиц: обзор клинических случаев 47

Биотехнологические лекарственные препараты

А.А. Деркаев, Е.И. Рябова, И.Б. Есмагамбетов, Д.В. Щебляков,
А.Н. Носков, И.Д. Виноградова, В.В. Прокофьев, Д.С. Полянский,
Д.Ю. Логунов, А.Л. Гинцбург

**Кандидатный препарат на основе модифицированных
однодоменных антител для терапии ботулизма,
вызванного ботулиническим токсином типа А 58**

Стандартизация и контроль качества

О.Г. Корнилова, В.Л. Багирова
**Фармакопейная стандартизация биологических
лекарственных препаратов: основные принципы в условиях
единого фармацевтического рынка стран Евразийского
экономического союза 71**

Е.И. Комаровская, О.В. Проскурина, А.А. Солдатов
**Эволюция АКДС-вакцины: разнообразие составов, трудности
стандартизации, перспективы развития 83**

С.М. Суханова, А.А. Семенов, Н.М. Минаева
**Вода для инъекций: мировые тренды в фармакопейной оценке
качества и российская экспертная практика 97**

Доклинические исследования

И.А. Алексеева, Д.Н. Лепихова, О.Ю. Борисова, А.С. Пименова,
И.Ю. Андриевская, И.В. Ибрагимхалилова
**Влияние условий хранения цельноклеточной
коклюшной вакцины на ее токсичность:
исследование на аутбредных мышах 111**

BIOLOGICAL PRODUCTS. PREVENTION, DIAGNOSIS, TREATMENT

Editor-in-Chief

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Deputy Editors-in-Chief

Georgy M. Ignatyev, Dr. Sci. (Med.), Prof., I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Moscow, Russia)

Musa R. Khaitov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Corr. Mem. RAS, National Research Centre "Institute of Immunology" (Moscow, Russia)

Executive Secretary

Olga Yu. Goykalova, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

The journal *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment* publishes reviews, original articles, and discussion articles on such issues as development of regulatory procedures, standardisation, quality control, production, and use of biological products for disease prevention, diagnosis, and treatment: immunobiological, biotechnological, and gene therapy products, human and animal blood plasma products, as well as various groups of immunomodulatory and cell-based medicinal products.

Editorial Board

Zhanna I. Avdeeva, Dr. Sci. (Med.), Prof., Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Alexander P. Agafonov, Dr. Sci. (Biol.), State Research Center for Virology and Biotechnology "Vector" (Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia)

Carmen Acosta Bas, PhD (Health Sci.), Prof., Latin-American Institute of Biotechnology MECHNIKOV (Managua, Nicaragua)

Sergey A. Arakelov, Cand. Sci. (Biol.), Saint-Petersburg Scientific Research Institute of Vaccines and Serums and the Enterprise for the Production of Bacterial Preparations (Saint Petersburg, Russia)

Vladimir P. Bondarev, Dr. Sci. (Med.), Prof., Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal Medical Biological Agency (Moscow, Russia)

Igor V. Borisevich, Dr. Sci. (Med.), Prof., Federal Medical and Biological Agency (Moscow, Russia)

Sergey V. Borisevich, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Acad. RAS, 48 Central Scientific Research Institute (Sergiev Posad, Moscow Region, Russia)

Nikolay I. Briko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Rudolf Valenta, MD, PhD, Prof., Medical University of Vienna (Vienna, Austria)

Elena L. Gasich, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Republican Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health (Minsk, Republic of Belarus)

Andrei Y. Hancharou, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (Minsk, Republic of Belarus)

Aleksandr L. Gintsburg, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Acad. RAS, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya (Moscow, Russia)

Igor P. Dmitriev, Cand. Sci. (Biol.), Washington University in St. Louis (Saint Louis, Missouri, United States)

Vyacheslav B. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

Vladimir I. Klimov, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Alexey S. Korovkin, Cand. Sci. (Med.) (Moscow, Russia)

Ján Lakota, MD, PhD, Institute of Normal and Pathological Physiology at the Centre of Experimental Medicine of the Slovak Academy of Sciences (Bratislava, Slovakia)

Denis Y. Logunov, Dr. Sci. (Biol.), Acad. RAS, National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya (Moscow, Russia)

Ekaterina V. Melnikova, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Aleksandr N. Mironov, Dr. Sci. (Med.), Prof., National Agency of Medicines (Moscow, Russia)

Artashes A. Movsesyants, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

Vyacheslav D. Mosyagin, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

Elena Smith, Cand. Sci. (Biol.), Sanofi's mRNA Center of Excellence (Boston, Massachusetts, United States)

Olga V. Fadeikina, Cand. Sci. (Biol.), Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (Moscow, Russia)

Ravil A. Khamitov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Generium JSC (Volginsky, Vladimir Region, Russia)

Alexandr V. Shustov, Cand. Sci. (Biol.), National Center for Biotechnology (Astana, Kazakhstan)

Founder and publisher

Federal State Budgetary Institution
"Scientific Centre for Expert Evaluation
of Medicinal Products" of the Ministry
of Health of the Russian Federation

Managing Editor

Olga F. Fedotova

+7 (495) 121-06-00 (63-05)

Fedotovaof@expmed.ru

Guest Editor for the Special Issue

Denis Y. Logunov, Dr. Sci. (Biol.), Acad. RAS

Science Editors

Nadezhda V. Gukasova, Cand. Sci. (Biol.)

Pavel V. Ershov, Cand. Sci. (Biol.)

Translation Editor

Liubov A. Baltina

Development Manager

Alexander A. Mzhelsky

Postal address of the founder and editorial office

8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051

Tel.: +7 (499) 190-18-18

(63-42, 63-02, 63-35)

biopreparaty@expmed.ru

Contract publisher

NEICON ISP LLC: 4/5 Letnikovskaya St.,
Moscow 115114

Printing office

Triada Publishing House LLC:
9 Tchaikovsky Ave, office 514, Tver
170034

Print run

100 copies. Free price

Passed for printing

28 March 2025

Date of publication

9 April 2025

Subscription codes

Pressa Rossii catalogue: 57941

Ural-Press agency catalogue: 57941

The journal is registered as a mass
medium by the Federal Service for
Supervision of Communications,
Information Technologies and Mass
Communications. Certificate PI
No. FS77-82918 dated 14 March 2022

© Compilation, design. Scientific Centre
for Expert Evaluation of Medicinal
Products, 2025

CONTENTS

Issue topic

VACCINES: CLINICAL TRIALS AND ACTUAL CLINICAL PRACTICE

M.M. Shmarov, S.V. Alekseeva, N.A. Dovzhenko, A.S. Bandelyuk,
I.B. Esmagambetov, D.N. Shcherbinin, L.V. Verkhovskaya,
S.V. Volchihina, Ya.V. Simakova, V.F. Babira, D.Y. Logunov,
A.L. Gintsburg

**Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a viral vector
vaccine against influenza A: Phase I open clinical trial.....7**

A.A. Lidzhieva, A.Yu. Medkova, S.V. Kulikov, L.N. Sinyashina,
R.A. Sioundiukova, I.N. Chernyshova, M.V. Gavrilova,
K.K. Bushkova, N.A. Snegireva, I.N. Dyakov, G.I. Karataev

**Immunogenicity of GamLPV, an intranasal live vaccine
for pertussis prevention, in adult volunteers:
A blind, randomised, placebo-controlled trial to optimise
the method and schedule of administration..... 22**

A.S. Korovkin, D.V. Gorenkov, A.A. Soldatov, V.A. Merkulov

**Global experience with chickenpox vaccines
and future prospects for the Russian Federation..... 37**

E.I. Komarovskaya, O.V. Proskurina

Tetanus in unvaccinated persons: A review of case reports 47

Biotechnological medicinal products

A.A. Derkaev, E.I. Ryabova, I.B. Esmagambetov, D.V. Shcheblyakov,
A.N. Noskov, I.D. Vinogradova, V.V. Prokofiev, D.S. Polyansky,
D.Y. Logunov, A.L. Gintsburg

**A modified single-domain antibody candidate for the treatment
of botulism caused by botulinum toxin type A 58**

Quality control and standardisation

O.G. Kornilova, V.L. Bagirova

**Pharmacopoeial standardisation of biological medicinal products:
Basic principles for the common pharmaceutical market
of the Eurasian Economic Union..... 71**

E.I. Komarovskaya, O.V. Proskurina, A.A. Soldatov

**DPT vaccine evolution: Formulation differences, standardisation
issues, and development prospects 83**

S.M. Sukhanova, A.A. Semenov, N.M. Minaeva

**Water for injections: Global trends in pharmacopoeial quality
assessment and Russian expert practice..... 97**

Preclinical studies

I.A. Alekseeva, D.N. Lepikhova, O.Yu. Borisova, A.S. Pimenova,
I.Yu. Andrievskaya, I.V. Ibragimkhalilova

**Influence of storage conditions on the toxicity
of whole-cell pertussis vaccine in outbred mice111**

УДК 615.371:615.038:578.7:578.832.1
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21>

Оригинальная статья | Original article



Безопасность, реактогенность и иммуногенность векторной вакцины против гриппа А: открытое клиническое исследование I фазы

М.М. Шмаров¹✉, С.В. Алексеева¹, Н.А. Довженко¹, А.С. Банделюк¹,
И.Б. Есмагамбетов¹, Д.Н. Щербинин¹, Л.В. Верховская¹, С.В. Волчихина²,
Я.В. Симакова¹, В.Ф. Бабира², Д.Ю. Логунов¹, А.Л. Гинцбург¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, улица Гамалеи, д. 18, Москва, 123098, Российская Федерация

² Филиал № 7 федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, ул. Новая, д. 4, г. Сергиев Посад-6, Московская обл., 141306, Российская Федерация

✉ Шмаров Максим Михайлович; mshmarov@gamaleya.org

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Разработка универсальных противогриппозных вакцин на основе консервативных антигенов вируса гриппа представляет собой перспективную стратегию для предотвращения пандемий гриппа. Рекомбинантные вакцины на основе аденовирусных векторов обладают высоким противовирусным потенциалом и доказали свою эффективность в период пандемии COVID-19. В связи с этим представляется актуальной разработка и клиническая оценка векторной вакцины против гриппа А.

ЦЕЛЬ. Изучение безопасности, реактогенности и иммуногенности векторной вакцины широкого спектра действия против гриппа А при однократном интраназальном введении у здоровых добровольцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследовании использовали векторную вакцину против гриппа А на основе рекомбинантных аденовирусов человека 5 серотипа ГамФлюВак (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). В клиническом исследовании принимали участие 36 добровольцев. Период наблюдения составлял 28 сут. Оценка безопасности проводили на основании данных о частоте, характере и степени тяжести нежелательных явлений (НЯ) при однократном интраназальном введении векторной вакцины в дозах (по количеству вирусных частиц): $2,5 \times 10^{10}$ (группа 1), $1,0 \times 10^{11}$ (группа 2) и $2,5 \times 10^{11}$ (группа 3). Для изучения иммуногенности определяли уровень IgG антител к вирусу гриппа А (H5N2) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на 0 и 28 сут исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В ходе проведения исследования серьезных нежелательных явлений и НЯ тяжелой степени не было зарегистрировано. Наиболее часто НЯ, связанные с исследуемым препаратом, проявлялись со стороны дыхательной системы, крови, а также в виде общих расстройств (повышение температуры тела, головная боль, озноб, недомогание, артралгия, миалгия). Оценка НЯ категории общих расстройств и нарушений в месте введения вакцины показала, что различия в частотах возникновения НЯ при сравнении групп 1 (0%), 2 (16,7%) и 3 (33,3%) были статистически значимыми ($p=0,0285$). В группе 3 через 28 сут выявлено максимальное увеличение среднего геометрического значения титров специфических IgG антител — в 2,8 раза. Показатель частоты сероконверсии в 2 и более раза составил 100%, в 4 и более раза — 41,7%.

© М.М. Шмаров, С.В. Алексеева, Н.А. Довженко, А.С. Банделюк, И.Б. Есмагамбетов, Д.Н. Щербинин, Л.В. Верховская, С.В. Волчихина, Я.В. Симакова, В.Ф. Бабира, Д.Ю. Логунов, А.Л. Гинцбург, 2025

ВЫВОДЫ. В клиническом исследовании I фазы векторной вакцины против гриппа А ГамФлюВак при однократном интраназальном введении продемонстрирована иммуногенность и благоприятный профиль безопасности вакцины.

РЕГИСТРАЦИЯ: Идентификатор клинического исследования ClinicalTrials.gov: NCT03651544. Зарегистрировано 29.08.2018.

Ключевые слова: грипп; универсальная противогриппозная вакцина; векторная вакцина против гриппа А; интраназальная вакцина; клиническое исследование; безопасность; реактогенность; иммуногенность, нежелательные явления; нежелательные реакции

Для цитирования: Шмаров М.М., Алексеева С.В., Довженко Н.А., Банделюк А.С., Есмагамбетов И.Б., Щербинин Д.Н., Верховская Л.В., Волчихина С.В., Симакова Я.В., Бабира В.Ф., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Безопасность, реактогенность и иммуногенность векторной вакцины против гриппа А: открытое клиническое исследование I фазы. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):7–21. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21>

Финансирование. Государственное задание «Разработка вакцины широкого спектра действия против вирусов гриппа А на основе рекомбинантных вирусных векторов», номер госрегистрации АААА-А17-117030110102-3.

Потенциальный конфликт интересов. Существует потенциальный конфликт интересов в связи с аффилиацией авторов данной научной работы с ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Однако при написании рукописи они руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных. А.Л. Гинцбург и Д.Ю. Логунов являются членами редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» с 2021 и 2024 г. соответственно.

Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a viral vector vaccine against influenza A: Phase I open clinical trial

Maxim M. Shmarov¹✉, Svetlana V. Alekseeva¹, Nina A. Dovzhenko¹,
Alina S. Bandelyuk¹, Ilias B. Esmagambetov¹, Dmitrii N. Shcherbinin¹,
Lyudmila V. Verkhovskaya¹, Svetlana V. Volchihina², Yana V. Simakova¹,
Vladimir F. Babira², Denis Y. Logunov¹, Alexander L. Gintsburg¹

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 18 Gamaleya St., Moscow 123098, Russian Federation

² Branch No. 7, Main Military Clinical Hospital named after academician N.N. Burdenko, 4 Novaya St., Sergiev Posad-6, Moscow Region 141306, Russian Federation

✉ Maxim M. Shmarov; mshmarov@gamaleya.org

ABSTRACT

INTRODUCTION. The development of universal influenza vaccines based on conserved influenza virus antigens is a promising strategy for preventing pandemic influenza. Recombinant vaccines based on adenoviral vectors have high antiviral potential and have proven their effectiveness during the COVID-19 pandemic. In this regard, the development and clinical evaluation of a viral vector vaccine against influenza A seem relevant.

AIM. The aim was to evaluate the safety, reactogenicity, and immunogenicity of a broad-spectrum viral vector vaccine against influenza A after a single intranasal administration in healthy volunteers.

MATERIALS AND METHODS. This clinical trial studied the GamFluVac recombinant human adenovirus serotype 5 (rAd5)-based vaccine against influenza A (National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya). The clinical trial enrolled 36 volunteers. The follow-up period was 28 days. The safety assessment of the viral vector vaccine was based on the incidence, nature, and severity of adverse events (AEs) after a single intranasal administration at doses of 2.5×10^{10} (Group 1),

1.0×10^{11} (Group 2), and 2.5×10^{11} (Group 3) viral particles. Immunogenicity was evaluated by measuring serum IgG antibodies against influenza A (H5N2) by enzyme immunoassay on Day 0 and Day 28.

RESULTS. No serious or severe AEs were reported during the clinical trial. Most AEs associated with the vaccine manifested as respiratory disorders, abnormal blood findings, and general disorders (elevated body temperature, headache, chills, malaise, arthralgia, and myalgia). Statistically significant differences ($p=0.0285$) were identified in the incidence of general disorders and administration site conditions in Group 1 (0%), Group 2 (16.7%), and Group 3 (33.3%). Group 3 demonstrated the highest increase in the geometric mean titres of specific IgG antibodies (2.8 times the baseline) on Day 28. In this group, 100% of volunteers had a ≥ 2 -fold seroconversion rate, and 41.7% of volunteers had a ≥ 4 -fold seroconversion rate.

CONCLUSIONS. This phase I clinical trial of the GamFluVac viral vector vaccine against influenza A demonstrated the immunogenicity and favourable safety profile of the vaccine after a single intranasal administration.

REGISTRATION. This clinical trial was registered at ClinicalTrials.gov (NCT03651544) on 29 August 2018.

Keywords: influenza; universal influenza vaccine; viral vector vaccine against influenza A; intranasal vaccine; clinical trial; safety; reactogenicity; immunogenicity; adverse events; adverse drug reactions

For citation: Shmarov M.M., Alekseeva S.V., Dovzhenko N.A., Bandelyuk A.S., Esmagambetov I.B., Shcherbinin D.N., Verkhovskaya L.V., Volchihina S.V., Simakova Ya.V., Babira V.F., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. Safety, reactogenicity, and immunogenicity of a viral vector vaccine against influenza A: Phase I open clinical trial. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):7–21. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21>

Funding. This clinical trial was funded under the State Assignment "Development of a broad-spectrum vaccine against influenza A based on recombinant viral vectors" (R&D Registry No. AAAA-A17-117030110102-3).

Disclosure. There is a potential conflict of interest in connection with the affiliation of the authors with the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation. However, when writing this paper, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained and declare impartiality in the assessment of the data obtained. A.L. Gintsburg and D.Y. Logunov have been members of the Editorial Board of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment* since 2021 and 2024, respectively.

ВВЕДЕНИЕ

Предыдущие пандемии гриппа были вызваны вирусами гриппа А, включая подтипы H1N1 (1918, 1977 и 2009 гг.), H2N2 (1957 г.) и H3N2 (1968 г.) [1, 2]. Угроза новой пандемии сохраняется из-за высокой мутационной изменчивости генома вируса гриппа А [3]. Спонтанная генетическая реассортация между зоонозными и антропонозными вариантами вируса в резервуарном хозяине может привести к возникновению потенциально пандемического вируса гриппа с новыми свойствами, способного передаваться от животных к человеку. Новые вирусные варианты могут вызвать пандемию при условии приобретения ими способности быстро распространяться среди населения на фоне отсутствия предсуществующего иммунитета и вызывать клинически выраженные

формы инфекции [1, 4, 5]. При возникновении пандемии гриппа разработка вакцины на основе нового штамма потребует нескольких месяцев, что затруднит доступ к вакцине на ранних этапах пандемии из-за ограниченных производственных мощностей и необходимости массовой вакцинации¹.

Под координацией Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) функционирует система эпидемиологического надзора за гриппом, которая служит механизмом глобального предупреждения о возникновении вирусов гриппа с пандемическим потенциалом². После оценки рисков отбираются вирусы-кандидаты, на основе которых в межпандемический период разрабатываются препандемические (зоонозные) вакцины. Рекомендации по вирусам-кандидатам ежегодно обновляются на сайте

¹ <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-EPR-GIP-2006-1>

² Доклад Рабочей группы открытого состава государств-членов по обеспечению готовности к пандемическому гриппу: обмен вирусами гриппа и доступ к вакцинам и другим преимуществам. Обеспечение готовности к пандемическому гриппу: обмен вирусами гриппа и доступ к вакцинам и другим преимуществам. ВОЗ; 2011. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/5108/A64_8-ru.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ВОЗ³. Этот подход важен для создания запаса вакцин и может сократить сроки обеспечения вакцинами в случае возникновения пандемии гриппа. Вместе с тем заранее разработанные вакцины на основе зоонозных вирусов с пандемическим потенциалом могут продемонстрировать низкую перекрестную защиту против нового пандемического вируса гриппа из-за наличия значительных антигенных различий [6]. Одновременно наблюдается увеличение количества вирусов гриппа, рекомендуемых ВОЗ в качестве кандидатов для вакцин. Число подтипов вируса гриппа для Северного полушария возросло с одного подтипа А(Н5N1) для сезона 2010–2011 гг. до восьми подтипов: А(Н5N1), А(Н5)не-А(Н5N1), А(Н7), А(Н7N9), А(Н9N2), А(Н3N2), А(Н1), А(Н3N8) — для сезона 2023–2024 гг.⁴. Поддержание запасов препандемических вакцин требует значительных финансовых затрат, которые окажутся неэффективными в случае несоответствия антигенных характеристик пандемического штамма вируса с теми, которые использованы в кандидатной вакцине [7].

Перспективным направлением решения проблемы является разработка универсальных вакцин широкого спектра действия, которые защищают от различных вариантов вируса гриппа А вне зависимости от пандемического штамма. Согласно стратегии ВОЗ, предпочтительна разработка к 2027 г. универсальных вакцин против гриппа А, главной характеристикой которых является способность защищать от гриппа А на протяжении как минимум пяти лет⁵ [8]. Механизм действия таких вакцин основан на индукции гуморального иммунного ответа к консервативным эпитопам вируса гриппа и/или стимуляции специфического клеточного иммунного ответа. В настоящее время разрабатываются кандидаты в универсальные противогриппозные вакцины, которые находятся на разных стадиях исследований⁶.

В условиях пандемии COVID-19 хорошо зарекомендовали себя вакцины на основе аденовирусных векторов, обладающие благоприятным профилем безопасности и высокой эпидемиологической эффективностью [9]. Аденовирусные векторы также перспективны для создания

противогриппозных вакцин, так как они могут экспрессировать различные антигены вируса гриппа, в том числе консервативные, индуцируя у иммунизированных людей гуморальные и Т-клеточные иммунные ответы [10]. Важными преимуществами этих векторов являются возможность введения через верхние дыхательные пути, тропность к тканям и органам дыхательной системы, а также возможность формирования мукозального иммунного ответа непосредственно во «входных воротах инфекции» [11, 12]. Интраназальный путь введения удобен для пациентов, особенно в случае возникновения пандемии. Несколько вакцин, предназначенных для интраназального применения, находятся на различных стадиях клинических исследований (КИ) [13, 14].

В ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) разрабатывается вакцина векторная для профилактики гриппа А (ГамФлюВак). Основой вакцины являются рекомбинантные репликативно-дефектные аденовирусы человека 5 серотипа (Ad5). В один вектор встроены консенсусные гены белка нуклеопротеина NP и белка ионного канала M2 вируса гриппа А как наиболее близкие последовательности ко всем имеющимся для вируса гриппа А человека в базе Influenza Virus Resource⁷. Второй вектор содержит ген белка гибридного гемагглютинина вируса гриппа А, искусственно полученный из известных последовательностей гемагглютининов⁸ штаммов вируса гриппа А человека подтипов Н1, Н2 и Н5 (НA125), содержащих наибольшее количество эпитопов для Т- и В-клеток. Ранее в доклинических исследованиях авторами было показано безопасность ГамФлюВак и способность обеспечивать 90–100% защиту от птичьих, свиных и человеческих вирусов гриппа А подтипов Н7N2, Н1N1, Н5N2, Н3N2, Н2N3, Н9N2, что свидетельствует о ее потенциале для создания вакцины широкого спектра действия против гриппа А [15, 16].

Цель работы — изучение безопасности, реактогенности и иммуногенности векторной

³ <https://www.who.int/teams/global-influenza-programme/vaccines/who-recommendations/zoootic-influenza-viruses-and-candidate-vaccine-viruses>

⁴ Там же.

⁵ WHO preferred product characteristics for next generation influenza vaccines. WHO; 2017. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241512466>

Global influenza strategy 2019–2030. Prevent. Control. Prepare. WHO; 2019. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515320>

⁶ <https://ivr.cidrap.umn.edu/universal-influenza-vaccine-technology-landscape>

⁷ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/Database/nph-select.cgi?go=database>

⁸ Там же.

вакцины широкого спектра действия против гриппа А при однократном интраназальном введении у здоровых добровольцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн клинического исследования

КИ вакцины проводилось в рамках открытого исследования безопасности, реактогенности и иммуногенности лекарственного препарата «ГамФлюВак Вакцина векторная против гриппа А» у здоровых добровольцев в трех группах с эскалацией дозы по протоколу № 03-ГамФлюВак-2018, который был одобрен Минздравом России (разрешение на проведение КИ № 435 от 24.08.2018)⁹, Советом по этике при Минздраве России (выписка из протокола заседания Совета по этике № 175 от 21.08.2018) и независимым локальным этическим комитетом медицинской организации, в которой проводилось КИ (филиал № 7 ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Минобороны России – Исследовательский центр). Номер КИ на сайте ClinicalTrials.gov¹⁰: NCT03651544.

Исследование проводилось с соблюдением требований Федерального закона № 61-ФЗ¹¹, этических принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации¹², Правилами надлежащей клинической практики¹³, ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика» и приказа Минздрава России № 200н¹⁴. От добровольцев было получено письменное информированное согласие на публикацию данных исследования.

Введение препарата и наблюдение за добровольцами проводилось в период с октября по декабрь 2018 г.

Исследование состояло из 3 периодов: скрининг (до 7 сут), период введения исследуемого препарата (госпитализация на 3 сут), период последующего наблюдения (28 сут с момента введения). По результатам скрининга проводился последовательный набор в три группы с различными дозами введения препарата. Общая численность добровольцев, получивших препарат, составила 36 человек.

Добровольцы

В исследовании принимали участие мужчины и женщины в возрасте от 18 до 55 лет. Женщины с детородным потенциалом были предупреждены о возможном риске в случае беременности. Масса тела была в пределах возрастной нормы. Соответствие добровольцев условиям участия в исследовании подтверждали с помощью стандартных лабораторных тестов, данных анамнеза и физикального обследования. Добровольцы, включенные в исследование, соответствовали общепринятым критериям включения и невключения¹⁵, используемым для исследования вакцин, введение которых людям будет осуществляться впервые, а также критериям невключения, характерным для назальных вакцин: недавние частые носовые кровотечения (>5 в прошлом году); хронический ринит, наличие дефектов носовой перегородки, полипов носа или других значительных аномалий; хирургические операции или травмы носа в анамнезе в течение 6 мес. Также у добровольцев должна была отсутствовать вакцинация от гриппа в течение 6 мес. до начала исследования (в том числе в ходе участия в других КИ).

Исследуемые препараты

Лекарственный препарат «ГамФлюВак Вакцина векторная против гриппа А», капли назальные, 0,5 мл/доза производства филиала «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, выпускаемый в трех дозах, отличающихся по содержанию рекомбинантных аденовирусов: доза 1 – $2,5 \times 10^{10}$ вирусных частиц (в.ч.); доза 2 – $1,0 \times 10^{11}$ в.ч.; доза 3 – $2,5 \times 10^{11}$ в.ч.

Способ применения и дозы исследуемого препарата

Добровольцам вакцину вводили однократно интраназально путем закапывания по 0,25 мл в каждое носовое отверстие стерильной медицинской пипеткой. Добровольцы, в зависимости от группы исследования, получали ГамФлюВак: в группе 1 – в дозе 1 ($2,5 \times 10^{10}$ в.ч.); в группе 2 – в дозе 2 ($1,0 \times 10^{11}$ в.ч.); в группе 3 – в дозе 3 ($2,5 \times 10^{11}$ в.ч.).

⁹ Государственный реестр лекарственных средств. Реестр разрешенных клинических исследований. РКИ № 435 (24.08.2018). <https://grls.rosminzdrav.ru/CIPermissionMini.aspx?CIStatementGUID=7a60ea73-0051-48fa-a218-9d469cd252e7&CIPermGUID=df9bd9e4-096a-4247-a3f2-acbadf562874>

¹⁰ <https://www.clinicaltrials.gov/>

¹¹ Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

¹² WMA Declaration of Helsinki – ethical principles for medical research involving human subjects. <https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki/>

¹³ Integrated addendum to ICH E6(R1): Guideline for good clinical practice E6(R2). https://database.ich.org/sites/default/files/E6_R2_Addendum.pdf

¹⁴ Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 200н «Об утверждении правил надлежащей клинической практики».

¹⁵ Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012.

Оценка безопасности и реактогенности

Оценка безопасности была основана на регистрации нежелательных явлений (НЯ) в ходе исследования.

Первичная конечная точка: оценка частоты, характера и степени тяжести НЯ при применении исследуемого препарата.

Вторичная конечная точка: изменения инструментальных (ЭКГ) и лабораторных показателей (клинический и биохимический анализ крови, общий анализ мочи), динамика жизненных показателей (артериальное давление, частота сердечных сокращений, температура тела).

В рамках оценки лабораторных показателей выполнялись общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, определение С-реактивного белка, общий анализ мочи. На этапе скрининга, до введения вакцины, на 3, 7, 14, 28 сут после вакцинации проводили отбор крови и мочи. Для добровольцев-женщин проводили тест на беременность на этапе скрининга и в день вакцинации.

Иммунологическая безопасность препарата определялась на основе оценки показателей иммунного статуса. В рамках исследования анализировали иммунограммы добровольцев по данным о количестве и относительном содержании субпопуляций Т- и В-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19), соотношении CD4/CD8, значении фагоцитарного показателя, содержании в сыворотке крови иммуноглобулинов основных классов (А, М, G, Е) и циркулирующих иммунокомплексов.

Реактогенные свойства вакцины оценивались по показателям местных реакций (область места введения препарата) и общих реакций (системные реакции организма на введение препарата). Их учет осуществлял врач на основании осмотра и опроса добровольцев, проводимых в соответствии с графиком визитов и процедур исследования. При нахождении добровольцев в стационаре ежедневно (в течение 3 сут) и на амбулаторных визитах (до 28 сут) проводили обследование различных органов и систем, в частности органов зрения, ЛОР-органов, органов сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, кожных покровов, опорно-двигательной

системы, нервной системы, лимфоузлов; осмотр видимых слизистых, пальпацию живота. Кроме того, добровольцы осматривались врачом-отоларингологом.

НЯ оценивали по следующим параметрам: максимальная степень тяжести НЯ; исход НЯ; действия в отношении исследуемого препарата; связь НЯ с исследуемым препаратом; необходимая медикаментозная коррекция НЯ. Связанные с исследуемым препаратом НЯ классифицировали как нежелательные реакции (НР).

Для оценки степени тяжести НЯ исследователем были использованы таблицы, составленные на основе руководств Национальных институтов здравоохранения США (National Institutes of Health, NIH)¹⁶. Степень достоверности причинно-следственной связи определяли согласно Руководству по экспертизе лекарственных средств¹⁷. Частоту НЯ оценивали с учетом классификации, принятой ВОЗ¹⁸.

Оценка иммуногенности

Уровень специфических IgG антител к вирусу гриппа А подтипа H5N2 в сыворотке крови добровольцев оценивали с помощью метода иммуоферментного анализа (ИФА) до первого введения вакцины (фоновые показатели) и на 28 сут исследования.

Иммуоферментный анализ

Уровень специфических IgG антител в образцах сыворотки крови определяли методом непрямого ИФА. Для определения использовали цельную сыворотку крови. В качестве сорбционного антигена использовали очищенный в градиенте сахарозы вирус гриппа штамма A/Mallard Duck/Pennsylvania/10218/84(H5N2), адаптированный к мышам [17], в концентрации 5 мкг/мл. Блокирование неспецифического связывания осуществляли 5% раствором овальбумина. Образцы сывороток крови титровали методом двукратных разведений начиная с 1:400 и вносили в лунки планшета. Инкубацию проводили в течение 1 ч при 37 °С. Связавшийся комплекс антиген-антитело выявляли с использованием конъюгата антител с пероксидазой (Goat-anti human IgG-HRP, кат. № A0170, Sigma) в разведении 1:10000. Инкубацию проводили, как описано выше. Для проявления реакции использовали

¹⁶ Common terminology criteria for adverse events (CTCAE), version 5.0, November 27, 2017. U.S. Department of Health and Human Services. National Institutes of Health. National Cancer Institute.

Toxicity grading scale for healthy adult and adolescent volunteers enrolled in preventive vaccine clinical trials. Guidance for industry. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Biologics Evaluation and Research. September 2007.

¹⁷ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. III. М.: Полиграф-плюс; 2014.

¹⁸ Guidelines for preparing core clinical safety information on drugs. Report of CIOMS Working Group III. Chapter 5. Good safety information practices. Geneva: WHO; 1995.

ТМВ-индикаторную смесь (кат. № Т0404, Sigma-Aldrich). Время инкубации составляло 15 мин при комнатной температуре в темноте. Оптическую плотность окрашенного продукта измеряли с использованием оборудования iEMS Reader MF (LabSystems, Финляндия) при длине волны 450 нм. Титр антител определяли как величину, обратную разведению сыворотки.

Методика определения уровня специфических IgG антител в сыворотке крови методом непрямого ИФА была валидирована по показателям: чувствительность, воспроизводимость и специфичность.

Статистическая обработка данных

Для проведения статистического анализа данных по безопасности использовали программы Microsoft Excel 2016 и STATISTICA 12.0 (StatSoft). Для сравнения групп по возрасту использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). При сравнении частоты НЯ/НР в различных группах применяли критерий χ^2 для линейного тренда с целью оценки влияния величины дозы на количество возникающих НЯ/НР у субъектов исследования. Для представления данных использовали значения среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (m).

Статистическую обработку данных по иммуногенности и графическое оформление результатов проводили с применением программы GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Достоверность результатов оценивали с помощью критерия знаковых рангов Уилкоксона для зависимых групп и критерия Манна-Уитни для независимых групп. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В рамках КИ векторной вакцины ГамФлюВак был проведен скрининг 60 человек для установления соответствия критериям включения/невключения. В исследование был включен 41 доброволец, из которых 36 получили исследуемый препарат. Пять человек являлись дублерами, однако их участие в исследовании не потребовалось. Полная анализируемая совокупность (full analysis set, FAS), популяции безопасности и иммуногенности включали 36 добровольцев. С учетом того что препарат впервые исследовался с участием людей, первоначально были госпитализированы 5 добровольцев группы 1, которые получили исследуемый препарат (0,5 мл) в дозе $2,5 \times 10^{10}$ в.ч.

При подтверждении безопасности препарата по результатам наблюдения на 7 сут после вакцинации, исследование было продолжено с участием еще 7 добровольцев в данной группе. Далее по аналогичной схеме (каждый раз после промежуточной оценки безопасности на 7 сут) в исследование были включены добровольцы группы 2, получавшие препарат (0,5 мл) в дозе $1,0 \times 10^{11}$ в.ч., и группы 3 – $2,5 \times 10^{11}$ в.ч. (рис. 1). Решение о возможности эскалации дозы после промежуточного анализа данных по безопасности принималось этическим комитетом Исследовательского центра.

Возраст участников исследования составлял от 18 до 55 лет. Статистически значимых возрастных отличий в сравниваемых между собой группах установлено не было ($p = 0,25$). Добровольцы, включенные в исследование во все группы, были в целом сопоставимы по весу и росту. Средний возраст, демографические и антропометрические показатели добровольцев, принимавших участие в исследовании, представлены в таблице S1 (опубликована на сайте журнала¹⁹).

Большинство добровольцев были нормостенического телосложения: в 1 группе – 11 человек (91,7%), в 2 и 3 группах – по 10 человек (83,3%). Астеническим телосложением обладали 1 участник из группы 1 (8,3%), по 2 участника из групп 2 и 3 (16,7%).

Согласно данным проведенного объективного обследования, общего клинического и биохимического анализов крови, анализа мочи, коагулограммы показано, что между группами добровольцев, включенных в исследование, на момент скрининга отсутствовали значимые различия, что подтверждает сопоставимость групп участников исследования.

Оценка безопасности векторной вакцины против гриппа А

В ходе динамического наблюдения за добровольцами не было выявлено влияния вакцины на жизненно важные органы и системы. В течение 28 сут после введения препарата случаев развития серьезных НЯ и непредвиденных НЯ не зарегистрировано. Также не было случаев досрочного прекращения участия в исследовании в связи с развитием НЯ. Клинических проявлений аллергических реакций на введение препарата – местных (например, крапивница, сыпь) и общих (анафилактические реакции) – не зафиксировано.

¹⁹ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-table-s1>

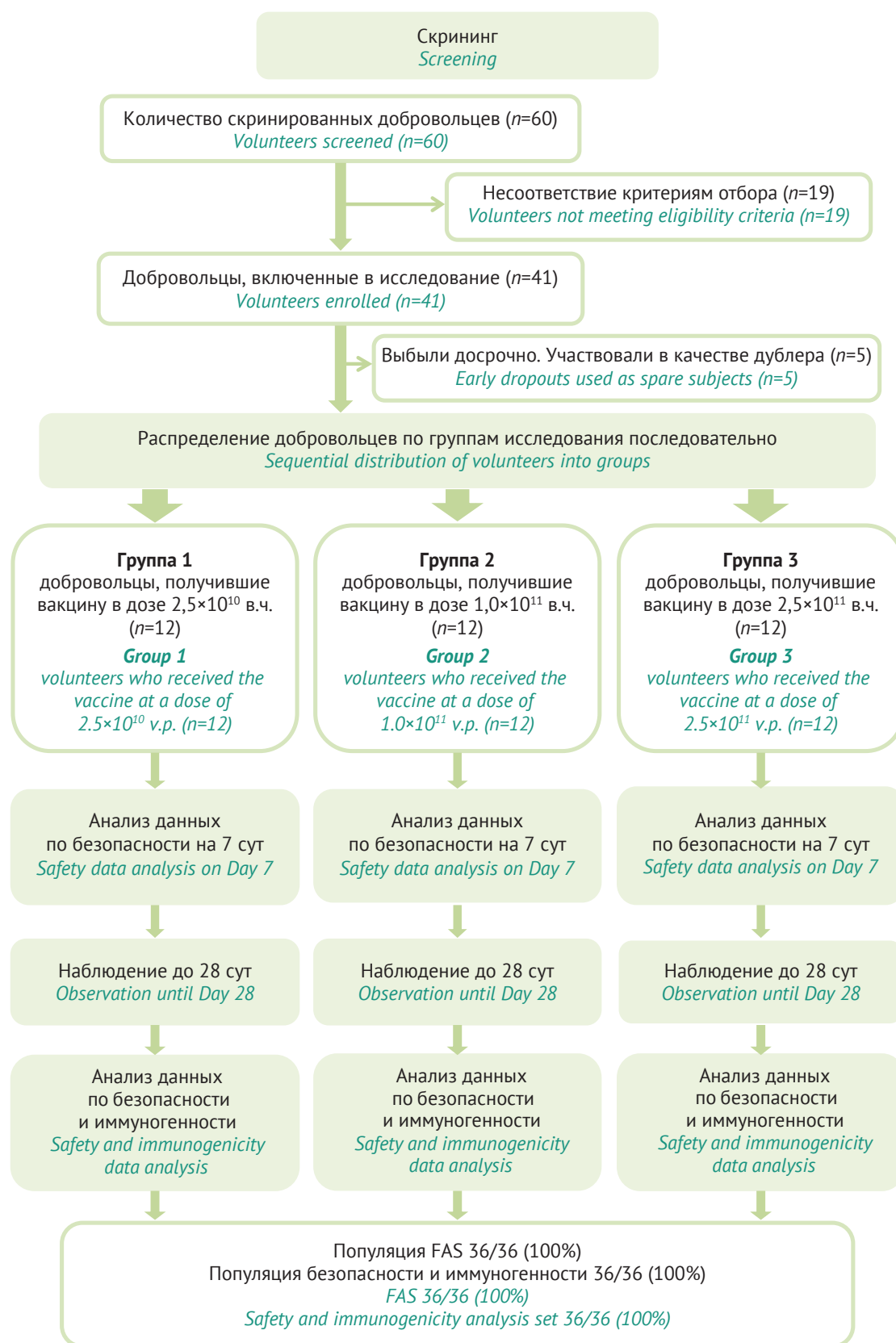


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Схема дизайна клинического исследования векторной вакцины против гриппа А и распределение добровольцев по группам. FAS — full analysis set (полная анализируемая совокупность), в.ч. — вирусные частицы.

Fig. 1. Design and volunteer allocation for the viral vector influenza A vaccine clinical trial. FAS, full analysis set, v.p., viral particles.

Во всех трех группах были зарегистрированы НЯ различных категорий в соответствии с классами систем органов (system organ class, SOC) согласно классификации MedDRA (Медицинский словарь терминов для регуляторной деятельности, Medical Dictionary for Regulatory Activities²⁰): 13 НЯ²¹, связанных с соматическим статусом; 25 НЯ — местных реакций, связанных с проявлениями различных симптомов в области дыхательных путей; 461 НЯ, связанное с отклонениями лабораторных показателей²².

Зафиксированные в ходе исследования НЯ имели в большинстве случаев легкую степень тяжести и обычно развивались на 1–7 сут после вакцинации. Все отмеченные НЯ разрешались в течение 1–2 последующих дней, как правило, без применения симптоматической терапии.

При оценке НЯ по степени тяжести в группе 1 были зарегистрированы: 1 эпизод лейкоцитоза, 9 случаев изменения данных иммунограмм (5 случаев повышения CD16, по одному случаю снижения CD16, 19 и 4, один случай повышения иммуноглобулина Е — до 1629 МЕ/мл), которые были оценены как НЯ средней степени тяжести. Остальные общие и местные НЯ, а также изменения лабораторных показателей в группе 1 расценены как НЯ легкой степени тяжести. В группе 2 в 3 случаях зарегистрированы общие и местные НЯ средней степени тяжести (повышение CD16, повышение иммуноглобулина Е (до 614 МЕ/мл), головная боль), в остальных случаях — НЯ легкой степени тяжести. В группе 3 все НЯ определялись как легкой степени тяжести.

Причинно-следственная связь НЯ с изучаемым препаратом устанавливалась исследователем и была оценена как «определенная» или «возможная/вероятная» для проявлений местных НЯ (отечность, гиперемия, жжение), а также для таких симптомов, как повышение температуры тела, и для различных симптомов интоксикации (головная боль, озноб, недомогание, боль в мышцах и суставах). По данным лабораторных исследований — общего клинического анализа (лимфоцитоз, моноцитоз, колебание уровня нейтрофилов и лейкоцитов, повышение скорости оседания эритроцитов) и биохимического анализа (повышение уровня аланин- и аспартатаминотрансфераз, С-реактивного белка) — связь оценивалась как «возможная/вероятная». Причинно-следственная связь в случае аналогичных проявлений на поздних сроках амбу-

латорного наблюдения часто классифицировалась как «возможно, нет» или «вероятно, нет», что обусловлено существенным влиянием факторов, не связанных с препаратом, а характерных для обычного образа жизни добровольца и каких-либо состояний в амбулаторном периоде. Также можно отметить, что при оценке иммунограммы изменения носили разнонаправленный характер: отмечалось как повышение, так и понижение показателей в пределах групп.

НР, зарегистрированные в период проведения КИ, были распределены согласно классификации MedDRA (табл. 1). При сравнении групп 1, 2 и 3 различия по частоте возникновения НР в большинстве категорий оказались статистически незначимыми ($p > 0,05$): нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения ($p = 0,6812$), нарушения со стороны крови и лимфатической системы ($p = 0,8132$), нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей ($p = 0,0747$). Исключение составила одна категория (общие расстройства и нарушения в месте введения), в которой различия были статистически значимы ($p = 0,0285$).

Таким образом, выявленные в ходе исследования НЯ, которые были расценены как связанные с введением лекарственного препарата, характерны для большинства вакцин. случаев развития серьезных НЯ и НЯ тяжелой степени не было зарегистрировано, что свидетельствует об отсутствии у исследуемого препарата негативного влияния на жизненно важные органы и системы, а также существенного влияния на лабораторные показатели.

Оценка иммуногенности векторной вакцины против гриппа А

При проведении I фазы КИ иммуногенность вакцины в полной мере не оценивалась из-за небольшой выборки добровольцев в группах и отсутствия группы плацебо, в связи с чем была проведена предварительная оценка иммуногенности для уточнения доз II фазы КИ. Популяция эффективности (иммуногенности) совпадала с популяцией безопасности.

До вакцинации (в день введения вакцины, 0 сут) и после вакцинации (через 28 сут) проводили взятие венозной крови у добровольцев для получения образцов сыворотки и определение титра IgG антител к вирусу гриппа А (H5N2) с использованием метода ИФА (рис. 2).

²⁰ <https://www.meddra.org/>

²¹ Одно и то же нежелательное явление, отмечавшееся несколько раз у одного и того же добровольца, считалось как одно нежелательное явление.

²² Не все случаи повышения/понижения лабораторных показателей оценивались исследователями как нежелательные явления.

Таблица 1. Нежелательные реакции (НР) согласно классификации MedDRA, зарегистрированные у добровольцев после однократного интраназального введения векторной вакцины против гриппа А

Table 1. Adverse drug reactions (ADRs) in volunteers after a single intranasal administration of the viral vector vaccine against influenza A (according to the MedDRA classification)

Категория НР <i>System Organ Class</i>	Группа 1 <i>Group 1</i> (n=12)		Группа 2 <i>Group 2</i> (n=12)		Группа 3 <i>Group 3</i> (n=12)	
	Количество добровольцев с НР (частота в группе, %) <i>Number of volunteers with ADRs (group incidence rate, %)</i>	Количество НР <i>Number of ADRs</i>	Количество добровольцев с НР (частота в группе, %) <i>Number of volunteers with ADRs (group incidence rate, %)</i>	Количество НР <i>Number of ADRs</i>	Количество добровольцев с НР (частота в группе, %) <i>Number of volunteers with ADRs (group incidence rate, %)</i>	Количество НР <i>Number of ADRs</i>
Нарушения со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения / <i>Respiratory, thoracic, and mediastinal disorders</i>	6 (50,0)	8	3 (25,0)	3	7 (58,3)	8
Нарушения со стороны крови и лимфатической системы / <i>Blood and lymphatic system disorders</i>	11 (91,7)	25	10 (83,3)	14	8 (66,7)	28
Общие расстройства и нарушения в месте введения / <i>General disorders and administration site conditions</i>	0 (0)	0	2 (16,7)	4	4 (33,3)	7
Нарушения со стороны почек и мочевыводящих путей / <i>Renal and urinary disorders</i>	2 (16,7)	3	0 (0)	0	0 (0)	0

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. MedDRA — Медицинский словарь терминов для регуляторной деятельности²³, в.ч. — вирусные частицы.

Note. MedDRA, Medical Dictionary for Regulatory Activities²³, v.p., viral particles.

Введение вакцины добровольцам группы 1 с наименьшей дозой ($2,5 \times 10^{10}$ в.ч.) введение не приводило к увеличению уровня специфических IgG антител в сыворотке крови на 28 сут по сравнению с фоновыми значениями до вакцинации (рис. S1 A, опубликован на сайте журнала²⁴). Средние геометрические значения титров (СГТ) специфических IgG антител на 0 и 28 сут составляли 1131. Повышения индивидуальных значений титров IgG антител в 2 и более раза в сыворотке крови иммунизированных лиц обнаружено не было.

Введение векторной вакцины против гриппа А добровольцам группы 2 в средней дозе ($1,0 \times 10^{11}$ в.ч.) приводило к достоверному повышению уровней специфических IgG антител в сыворотке крови (рис. S1 B²⁴). Значение СГТ специфических антител до введения вакцины (0 сут) составляло 1425,44, а через 28 сут после вакцинации наблюдалось повышение СГТ до 2397,3 ($p=0,0039$). При этом было отмечено повышение индивидуальных значений титров IgG антител в 2 и более раза у 9 из 12 иммунизированных лиц.

У добровольцев группы 3, иммунизированных векторной вакциной в наибольшей дозе

($2,5 \times 10^{11}$ в.ч.), при анализе образцов сыворотки крови выявлено формирование иммунного ответа высокого уровня (рис. S1 C²⁴). Значение СГТ антител к вирусу гриппа А до иммунизации составляло 5382, а через 28 сут после вакцинации наблюдалось его существенное повышение до 15222 ($p=0,0005$). При этом повышение индивидуальных значений титров IgG антител в 2 и более раза регистрировалось у 12 из 12, а в 4 и более раза — у 5 из 12 добровольцев.

Сравнительный анализ полученных результатов в трех группах иммунизированных добровольцев приведен в таблице 2.

Оценка иммуногенности векторной вакцины против гриппа А у добровольцев показала наличие дозозависимого эффекта (табл. 2). Максимальная кратность увеличения СГТ специфических IgG антител через 28 сут после вакцинации в 2,8 раза отмечена у добровольцев группы 3, иммунизированных наибольшей дозой вакцины ($2,5 \times 10^{11}$ в.ч.). У всех лиц этой группы через 28 сут после иммунизации наблюдалось увеличение титра поствакцинальных сывороточных антител в 2 и более раза, таким образом, частота сероконверсии достигала 100%. Введение

²³ <https://www.meddra.org/>

²⁴ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-fig-s1>

Таблица 2. Результаты оценки уровня сероконверсии на 28 суток после однократного интраназального введения векторной вакцины против гриппа А здоровым добровольцам ($n=36$)

Table 2. Results of assessing the seroconversion levels on Day 28 after a single intranasal administration of the viral vector vaccine against influenza A to healthy volunteers ($n=36$)

Группа Group	Среднее геометрическое значение титров антител (95% доверительный интервал) <i>Geometric mean titre (95% confidence interval)</i>		Кратность уве- личения титров антител на 28 сут <i>Fold rise in antibody titres on Day 28</i>	Количество добровольцев с сероконверсией на 28 сут <i>Number of volunteers with seroconversion on Day 28</i>	
	До вакцинации (0 сут) <i>Before vaccination (Day 0)</i>	28 сут Day 28		2-кратный и более прирост титров антител, n (%) <i>≥2-fold IgG titre rise, n (%)</i>	4-кратный и более прирост титров антител, n (%) <i>≥4-fold IgG titre rise, n (%)</i>
Группа 1, $n=12$ <i>Group 1, $n=12$</i>	1131 (759,6–1685)	1131 (759,6–1685)	1	0 (0)	0 (0)
Группа 2, $n=12$ <i>Group 2, $n=12$</i>	1425,44 (986,9–2059)	2397,29* (1911–3008)	1,7	9 (75)	0 (0)
Группа 3, $n=12$ <i>Group 3, $n=12$</i>	5382* (3861–7501)	15222** (10922–21215)	2,8	12 (100)	5 (41,7)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. * $p<0,0001$ (уровень значимости различий титров антител между группами 2 и 3 на 0 сут); * $p<0,001$ и ** $p<0,0001$ (уровень значимости различий титров антител в группах между 0 и 28 сут); в.ч. — вирусные частицы.

Note. * $p<0,0001$ (level of significance of differences in antibody titres between Group 2 and Group 3 on Day 0); * $p<0,001$ and ** $p<0,0001$ (levels of significance of differences in antibody titres in groups between Day 0 and Day 28); v.p., viral particles.

вакцины добровольцам группы 2 в средней дозе ($1,0 \times 10^{11}$ в.ч.) также приводило к индукции гуморального иммунного ответа с достоверным увеличением СГТ специфических IgG антител (2-кратный прирост титров), однако частота сероконверсии была меньше, чем в группе 3, и составила 75%. При введении добровольцам группы 1 наименьшей дозы вакцины ($2,5 \times 10^{10}$ в.ч.) индукция специфического иммунного ответа не определялась.

Следует отметить, что 4-кратный и более прирост титров антител наблюдался только в группе 3 с уровнем сероконверсии 41,7%. Таким образом, полученные результаты предварительной оценки иммуногенности вакцины ГамФлюВак у здоровых добровольцев трех групп с возрастающими дозами препарата показали, что наиболее эффективно гуморальный иммунный ответ индуцирует доза вакцины с содержанием $2,5 \times 10^{11}$ рекомбинантных аденовирусных частиц.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе КИ I фазы по оценке безопасности и иммуногенности векторной вакцины ГамФлюВак при интраназальном однократном введении здоровым добровольцам была изучена возможность применения аденовирусных векторов 5 серотипа, несущих гены консервативных белков вируса гриппа А — M2, NP, а также ген гибридного гемагглютинаина HA125, в качестве вакцины против гриппа.

При выборе трех доз вакцины ($2,5 \times 10^{10}$, $1,0 \times 10^{11}$, $2,5 \times 10^{11}$ в.ч.) руководствовались литературными данными и результатами собственных исследований специфической активности и токсичности на животных [18–20]. Наименьшая доза ($2,5 \times 10^{10}$ в.ч.) была определена путем применения коэффициента безопасности 10 к дозе, установленной в исследованиях на животных. Наибольшая доза в исследовании составила $2,5 \times 10^{11}$ в.ч. Применение более высоких доз не проводилось ввиду отсутствия опубликованных данных об их безопасности.

При проведении КИ новых вакцин одной из главных характеристик является безопасность²⁵. Вакцины на основе аденовирусных векторов продемонстрировали свою безопасность в ряде КИ, в том числе при интраназальном введении. Так, данные, полученные в настоящем исследовании относительно характера и степени выраженности НЯ, отсутствия существенного влияния на жизненно важные системы и органы, а также значительного отрицательного воздействия на качество жизни добровольцев, согласуются с результатами, полученными в ходе исследования противогриппозной интраназальной вакцины (NasoVAX) при участии 80 добровольцев [21]. Данная вакцина создана на основе аденовируса человека 5 серотипа, экспрессирующего полноразмерный ген гемагглютинаина вируса гриппа A/California/04/2009(H1N1). Применение вакцины в дозах 1×10^9 , 1×10^{10} и 1×10^{11} в.ч.

²⁵ Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (Иммунобиологические лекарственные препараты). Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012.

показало безопасность и хорошую переносимость. Отмечено, что среди НЯ наиболее частыми были местные реакции в виде заложенности носа, чихания, раздражения носа, боли в горле и системные реакции в виде головной боли и усталости. Все НЯ характеризовались легкой или умеренной степенью тяжести, за исключением случаев головной боли и усталости у одного участника в группе с дозой 1×10^9 в.ч. и одного — с дозой 1×10^{11} в.ч. Длительность НЯ варьировала от 1 до 14 сут [21]. Сходные результаты были получены в ходе исследования безопасности интраназального введения вакцины Салнавак (доза 10^{11} в.ч.), содержащей рекомбинантные векторы на основе аденовирусов человека 26 и 5 серотипов, экспрессирующих ген S-белка вируса SARS-CoV-2 [22]. Таким образом, вакцины на основе аденовирусных векторов при интраназальном введении чаще всего вызывают НР со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения, а также общие нарушения и реакции в месте введения.

При введении вакцины ГамФлюВак наиболее частыми НР среди общих нарушений была головная боль, а со стороны дыхательной системы, органов грудной клетки и средостения — различные назальные симптомы и реакции со стороны слизистой оболочки носа (выделение слизи из носа, отечность носовых ходов, першение в горле, гиперемия зева и носовых ходов, заложенность носа и др.). Эти НР были ожидаемыми и типичными для вирусных вакцин при интраназальном введении.

Существующие в настоящее время стандартные методы оценки иммуногенности противогриппозных вакцин (реакция торможения гемагглютинации, реакция микронейтрализации) не всегда являются релевантными в отношении вакцин, содержащих консервативные антигены вируса гриппа. В связи с этим проводятся исследования по поиску новых иммунологических маркеров, не относящихся к гемагглютинирующим и нейтрализующим антителам, в том числе для определения с помощью метода ИФА, с целью установления коррелятов защиты, способных прогнозировать эффективность универсальных гриппозных вакцин [23, 24].

В проведенном исследовании для определения уровня IgG антител в образцах сыворотки крови методом ИФА использовали инактивированный вирус гриппа A/Mallard Duck/Pennsylvania/10218/84 в качестве антигена. Применение цельновирионного антигена в ИФА для обнаружения специфических антител

является классическим подходом, поскольку вирус содержит все белки в нативной конформации, включая гемагглютинин, нуклеопротеин и белок ионного канала M2 вируса гриппа. Это позволяет оценить гуморальный иммунный ответ на все антигены, представленные в аденовирусных векторах, входящих в состав вакцины.

Важно отметить, что в нашем исследовании во всех исходных образцах сыворотки крови, отобранных до вакцинации, были обнаружены IgG антитела к вирусу гриппа А (H5N2) в титрах 1:400, что свидетельствует о 100% серопозитивности участников на начальном этапе исследования. Выявление антител к вирусу птичьего гриппа А (H5N2), несмотря на отсутствие его циркуляции среди людей, вероятно, обусловлено наличием иммунного ответа на консервативные белки вируса гриппа (M1, M2, NP и др.). Кроме того, возможно наличие перекрестных реакций с консервативными эпитопами гемагглютинаина вируса гриппа, что ранее было описано в другой работе [25].

Так, при проведении КИ противогриппозной вакцины на основе репликативно-компетентного аденовируса типа 4, экспрессирующего гемагглютинин вируса гриппа A/Vietnam/1194/04 (H5N1) (Ad4-H5-Vtn), были выявлены высокие исходные уровни специфических мукозальных IgG и IgA антител к гемагглютинуину вируса гриппа А (H5). По мнению авторов, обнаружение антител в образцах, полученных до вакцинации, связано с перекрестной реактивностью к стволовой области гемагглютинаина антител, индуцированных предшествующим контактом с другими штаммами вируса гриппа [25].

В работах российских авторов также рассмотрены механизмы индукции перекрестно-реактивных IgA антител к вирусам гриппа птиц типа А (H5N1) и (H5N2), обусловленные циркуляцией других подтипов вируса гриппа, в частности А (H1N1)²⁶. Следует отметить, что в нашем исследовании исходные значения СГТ IgG антител к вирусу гриппа А (H5N2) во всех группах различались и составляли 1131 (группа 1), 1425,44 (группа 2), 5382 (группа 3), при этом статистически достоверное различие значений было только между группами 2 и 3 ($p < 0,0001$).

Важно учитывать, что в критерии отбора добровольцев входило отсутствие вакцинации против гриппа за последние 6 мес., однако информация о предыдущих вакцинациях не была известна. Кроме того, включенные в исследование лица не болели острыми респираторными заболеваниями за 7 сут до вакцинации и не имели

²⁶ Лосев ИВ. Особенности развития адаптивного иммунного ответа к вирусам гриппа А (H5N1), А (H5N2) и А (H2N2): дис. ... канд. биол. наук. СПб; 2017.

симптомов респираторных заболеваний за последние 3 сут. КИ было проведено в середине эпидемического сезона гриппа 2018–2019 гг., что могло повлиять на выявление повышенных уровней специфических IgG антител вследствие увеличения циркуляции сезонных вирусов гриппа в ходе эпидемического подъема, а также растянутого во времени последовательного набора добровольцев в группы. Вероятно, вклад в этот процесс могли вносить бессимптомные формы инфекции [26]. Возможное влияние данных факторов (ограничения исследования) на результаты оценки иммуногенности вакцины следует принимать во внимание при планировании дальнейших исследований и включать контрольную группу (плацебо) для сравнительного анализа динамики титра специфических антител.

Оценка результатов изучения иммуногенности показала, что однократное интраназальное введение вакцины ГамФлюВак с содержанием $2,5 \times 10^{10}$ в.ч. (группа 1) не приводило к увеличению значения СГТ IgG антител к вирусу гриппа А (H5N2). Введение дозы вакцины $1,0 \times 10^{11}$ в.ч. (группа 2) вызывало индукцию гуморального иммунного ответа с повышением значения СГТ специфических IgG антител (в 1,7 раза) и частотой сероконверсии 75% (с двукратным приростом). Наибольший иммунный ответ был достигнут после введения дозы вакцины $2,5 \times 10^{11}$ в.ч. (группа 3): увеличение значений СГТ специфических IgG антител составило 2,8 раза по сравнению с исходным значением; частота сероконверсии достигла 100% (с двукратным приростом) и 41,7% (с четырехкратным приростом).

Стоит отметить, что прямое сравнение иммуногенности вакцины ГамФлюВак с аналогичными вакцинами не представлялось возможным из-за отсутствия кандидатных векторных вакцин, основанных на консервативных антигенах вируса гриппа, прошедших стадию клинических исследований. Косвенное сравнение возможно лишь с интраназальной противогриппозной вакциной NasoVAX, которая отличается тем, что в качестве трансгена аденовирусные векторы несут гемагглютинин вируса гриппа, а не консервативные антигены. Анализ иммуногенности NasoVAX показал, что кратность прироста СГТ гемагглютинирующих антител на 29 сут после введения дозы $1,0 \times 10^{11}$ в.ч. составила 4,3, а частота сероконверсии достигла 33,3%. Доля лиц с приростом вируснейтрализующих антител в 4 и более раз составила

53,3% [21]. В нашем исследовании при сравнении с аналогичным уровнем дозы $1,0 \times 10^{11}$ в.ч. (группа 2) кратность увеличения СГТ специфических связывающих IgG антител составила 1,7, при этом добровольцы с четырехкратным приростом индивидуальных титров IgG антител отсутствовали. Это свидетельствует о меньшей иммуногенности консервативных антигенов, которые были использованы при разработке вакцины ГамФлюВак, по сравнению с иммунодоминантным антигеном — гемагглютинином вируса гриппа. Важно учитывать, что вакцина NasoVAX стимулировала продукцию антигенспецифических IgA на слизистой оболочке носоглотки — прирост примерно в 2 раза по сравнению с исходным значением СГТ. Данный показатель в рамках нашего исследования не оценивался.

В ходе дальнейших КИ планируется изучить способность вакцины ГамФлюВак индуцировать продукцию антигенспецифических IgA антител на слизистой оболочке. Дополнительно предполагается изучение клеточного иммунного ответа и реакции иммунной системы на аденовирусный вектор, включая оценку его влияния на иммуногенность при интраназальной иммунизации. Это позволит провести более полную характеристику иммуногенных свойств вакцины.

ВЫВОДЫ

1. В ходе клинического исследования I фазы векторной вакцины против гриппа А ГамФлюВак при ее однократном интраназальном применении продемонстрирован хороший профиль безопасности всех трех изученных доз ($2,5 \times 10^{10}$; $1,0 \times 10^{11}$; $2,5 \times 10^{11}$ вирусных частиц). Все выявленные нежелательные реакции были ожидаемы и типичны для вирусных вакцин при интраназальном введении.
2. В группе добровольцев получивших вакцину в дозе $2,5 \times 10^{11}$ в.ч. через 28 сут выявлено максимальное увеличение среднего геометрического значения титров специфических IgG антител — в 2,8 раза, при этом показатель частоты сероконверсии в 2 и более раз составил 100%, в 4 и более раз — 41,7%.
3. По результатам оценки иммуногенности векторной вакцины против гриппа А для дальнейших клинических исследований выбрана доза с содержанием $2,5 \times 10^{11}$ рекомбинантных аденовирусных частиц для интраназального введения.

Литература/References

1. Taubenberger JK, Kash JC. Influenza virus evolution, host adaptation, and pandemic formation. *Cell Host Microbe*. 2010; 7(6):440–51. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2010.05.009>
2. Белов АБ, Куликов ПВ. Решенные и проблемные вопросы эпидемиологии гриппа через сто лет после пандемии «испанки». *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*.

- ка. 2019;18(5):109–20. Belov AB, Kulikov PV. Solved and problematic issues of influenza epidemiology one hundred years after Spanish flu pandemic. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(5):109–20 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-5-109-120>
3. Chen R, Holmes EC. Avian influenza virus exhibits rapid evolutionary dynamics. *Mol Biol Evol*. 2006;23(12):2336–41. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl102>
 4. Thompson AJ, Paulson JC. Adaptation of influenza viruses to human airway receptors. *J Biol Chem*. 2021;296:100017. <https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.013309>
 5. Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, Peiris M, Kedzierska K, Doherty PC, et al. Influenza. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):3. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>
 6. Koutsakos M, Kedzierska K, Subbarao K. Immune responses to avian influenza viruses. *J Immunol*. 2019;202(2):382–91. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801070>
 7. Halder N, Kelso JK, Milne GJ. A model-based economic analysis of pre-pandemic influenza vaccination cost-effectiveness. *BMC Infect Dis*. 2014;14:266. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-266>
 8. Ostrowsky J, Arpey M, Moore K, Osterholm M, Friede M, Gordon J. Tracking progress in universal influenza vaccine development. *Curr Opin Virol*. 2020;40:28–36. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.02.003>
 9. Logunov DV, Dolzhikova IV, Shcheblyakov DV, Tukhvatulin AI, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: An interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021;397(10275):671–81. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)00234-8)
 10. Zhang C, Zhou D. Adenoviral vector-based strategies against infectious disease and cancer. *Hum Vaccin Immunother*. 2016;12(8):2064–74. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1165908>
 11. Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev Med Virol*. 2008;18(6):357–74. <https://doi.org/10.1002/rmv.589>
 12. Крюкова НО, Ракунова ЕБ, Костинов МП, Баранова ИА, Свитич ОА. Секреторный иммуноглобулин А респираторной системы и COVID-19. *Пульмонология*. 2021;31(6):792–8. Kryukova NO, Rakunova EB, Kostinov MP, Baranova IA, Svitch OA. Secretory immunoglobulin A of the respiratory system and COVID-19. *Pulmonologiya*. 2021;31(6):792–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2021-31-6-792-798>
 13. Зайнутдинов СС, Сиволобова ГФ, Локтев ВБ, Кочнева ГВ. Мукозальный иммунитет и вакцины против вирусных инфекций. *Вопросы вирусологии*. 2021;66(6):399–408. Zainutdinov SS, Sivolobova GF, Loktev VB, Kochneva GV. Mucosal immunity and vaccines against viral infections. *Problems of Virology*. 2021;66(6):399–408 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0507-4088-82>
 14. Alu A, Chen L, Lei H, Wei Y, Tian X, Wei X. Intranasal COVID-19 vaccines: From bench to bed. *EBioMedicine*. 2022;76:103841. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103841>
 15. Седова ЕС, Верховская ЛВ, Артемова ЭА, Щербинин ДН, Лысенко АА, Руднева ИА и др. Защита мышей от заражения вирусом гриппа птиц субтипа Н7 с помощью иммунизации рекомбинантным аденовирусом, кодирующим консервативные антигены вируса гриппа А. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(1):60–7. Sedova ES, Verkhovskaya LV, Artemova EA, Shcherbinin DN, Lysenko AA, Rudneva IA, et al. Protecting mice from H7 Avian influenza virus by immunisation with a recombinant adenovirus encoding influenza A virus conserved antigens. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(1):60–7 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-1-60-67>
 16. Tutykhina I, Esmagametov I, Bagaev A, Pichugin A, Lysenko A, Shcherbinin D, et al. Vaccination potential of B and T epitope-enriched NP and M2 against influenza A viruses from different clades and hosts. *PLoS One*. 2018;13(1):e0191574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191574>
 17. Smirnov YA, Lipatov AS, Van Beek R, Gitelman AK, Osterhaus AD, Claas EC. Characterization of adaptation of an avian influenza A (H5N2) virus to a mammalian host. *Acta Virol*. 2000;44(1):1–8. PMID: 10989685
 18. Черенова ЛВ, Каштиго ТВ, Саядян ХС, Шмаров ММ. Разработка вакцин на основе аденовирусных векторов: обзор зарубежных клинических исследований (часть 1). *Медицинская иммунология*. 2017;19(2):111–26. Cherenova LV, Kashtigo TV, Saiadian KhS, Shmarov MM. Development of vaccines based on adenoviral vectors: A review of foreign clinical studies (part 1). *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(2):111–26 (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-2-111-126>
 19. Черенова ЛВ, Каштиго ТВ, Саядян ХС, Шмаров ММ. Разработка вакцин на основе аденовирусных векторов: обзор зарубежных клинических исследований (часть 2). *Медицинская иммунология*. 2017;19(4):329–58. Cherenova LV, Kashtigo TV, Saiadian KhS, Shmarov MM. Development of vaccines based on adenoviral vectors: A review of foreign clinical studies (part 2). *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(4):329–58 (In Russ.). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-4-329-358>
 20. Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatulin AI, Dzharullaeva AS, Tukhvatulina NM, Shcheblyakov DV, et al. Safety and immunogenicity of GamEvac-Combi, a heterologous VSV- and Ad5-vectored Ebola vaccine: An open phase I/II trial in healthy adults in Russia. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(3):613–20. <https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1238535>
 21. Tasker S, O'Rourke AW, Suyundikov A, Booth P-GJ, Bart St, Krishnan V, et al. Safety and immunogenicity of a novel intranasal influenza vaccine (NasoVAX): A phase 2 randomized, controlled trial. *Vaccines*. 2021;9(3):224. <https://doi.org/10.3390/vaccines9030224>
 22. Зувев ЕВ, Евдокимова ОЛ, Маркова ОА, Короткевич ИА, Григорьева ТВ, Хамитов РА. Сравнительная оценка безопасности интраназальной и внутримышечной иммунизации вакцинами для профилактики коронавирусной инфекции на основе аденовирусов Ad26 и Ad5. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2023;23(3):275–89. Zuev EV, Evdokimova OL, Markova OA, Korotkevich IA, Grigorieva TV, Khamitov RA. Comparative safety evaluation of intranasal and intramuscular immunisation with Ad26 and Ad5-vectored vaccines to prevent coronavirus infection. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2023;23(3):275–89 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2023-23-451>
 23. Krammer F, Weir JP, Engelhardt O, Katz JM, Cox RJ. Meeting report and review: Immunological assays and correlates of protection for next-generation influenza vaccines. *Influenza Other Respir Viruses*. 2020;14(2):237–43. <https://doi.org/10.1111/irv.12706>
 24. Pavlova S, D'Alessio F, Houard S, Remarque EJ, Stockhofe N, Engelhardt OG. Workshop report: Immunoassay standardisation for “universal” influenza vaccines. *Influenza Other Respir Viruses*. 2017;11(3):194–201. <https://doi.org/10.1111/irv.12445>
 25. Matsuda K, Migueles SA, Huang J, Bolkhovitinov L, Stuccio S, Griesman T, et al. A replication-competent adenovirus-vectored influenza vaccine induces durable systemic and mucosal immunity. *J Clin Invest*. 2021;131(5):e140794. <https://doi.org/10.1172/jci140794>
 26. Hayward AC, Fragaszy EB, Bermingham A, Wang L, Copas A, Edmunds WJ, et al. Comparative community burden and severity of seasonal and pandemic influenza: Results of the Flu Watch cohort study. *Lancet Respir Med*. 2014;2(6):445–54. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70034-7](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70034-7)

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещены *таблица S1 и рисунок S1*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-table-s1>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-fig-s1>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **М.М. Шмаров** — разработка концепции, планирование и дизайн

Additional information. Table S1 and Figure S1 is published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-table-s1>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-7-21-fig-s1>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **M.M. Shmarov** developed the concept, planned and designed the

исследования, критический пересмотр и редактирование текста рукописи; **С.В. Алексеева** — анализ и интерпретация результатов исследования иммуногенности, написание текста рукописи; **Н.А. Довженко** — анализ результатов оценки безопасности, написание текста рукописи; **А.С. Банделюк** — подготовка антигена для оценки иммуногенности вакцины; **И.Б. Есмагамбетов** — разработка дизайна векторных конструкций, входящих в состав вакцины; **Д.Н. Щербинин** — разработка концепции, критический пересмотр и редактирование текста рукописи; **Л.В. Верховская** — определение титров антител в образцах сыворотки крови добровольцев методом ИФА; **С.В. Волчихина** — анализ влияния препарата на лабораторные показатели; **Я.В. Симакова** — систематизация результатов оценки безопасности; **В.Ф. Бабира** — анализ влияния препарата на жизненно важные системы и органы; **Д.Ю. Логунов** — анализ и интерпретация результатов исследования; **А.Л. Гинцбург** — разработка дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования одобрен Минздравом России (разрешение на проведение клинического исследования № 435 от 24.08.2018), Советом по этике Минздрава России (выписка из протокола заседания Совета по этике № 175 от 21.08.2018) и независимым локальным этическим комитетом филиала № 7 ФГБУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко». Исследование проводилось в соответствии с Правилами надлежащей клинической практики, требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Спонсор гарантирует, что публикация соответствует протоколу и другим документам исследования.

Согласие пациентов на публикацию. Получено информированное добровольное согласие пациентов на обработку персональных данных и их использование с научной и образовательной целью, в том числе на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

clinical trial, critically revised and edited the manuscript. **S.V. Alekseeva** analysed and interpreted the results of the immunogenicity study and drafted the manuscript. **N.A. Dovzhenko** analysed the results of safety assessment and drafted the manuscript. **A.S. Bandelyuk** prepared antigen samples for vaccine immunogenicity evaluation. **I.B. Esmagambetov** designed the vaccine vector constructs. **D.N. Shcherbinin** developed the concept, critically revised and edited the manuscript. **L.V. Verkhovskaya** performed enzyme-linked immunosorbent assays to determine antibody titres in serum samples of volunteers. **S.V. Volchihina** analysed the effect of the medicinal product on laboratory findings. **Ya.V. Simakova** systematised the results of safety assessment. **V.F. Babira** analysed the effect of the medicinal product on vital body systems and organs. **D.Y. Logunov** analysed and interpreted the results of the clinical trial. **A.L. Gintsburg** designed the clinical trial and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. This clinical trial was approved by the Russian Ministry of Health (clinical trial authorisation No. 435 dated August 24, 2018), the Ethics Council of the Ministry of Health (extract from the minutes No. 175 dated August 21, 2018), and the Independent Local Ethic Committee of Branch No. 7 of the Main Military Clinical Hospital named after N.N. Burdenko. The clinical trial was conducted in accordance with the requirements of Good Clinical Practice and the Declaration of Helsinki of the World Medical Organisation. The Sponsor guarantees that the publication corresponds to the protocol and other study documents.

Informed consent. The patients gave informed consent for the processing of their protected personal and health information, as well as for its use and anonymised publication for scientific and educational purposes.

Об авторах / Authors

Шмаров Максим Михайлович, д-р биол. наук / **Maxim M. Shmarov**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5268-1296>

Алексеева Светлана Викторовна, канд. биол. наук / **Svetlana V. Alekseeva**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3313-1894>

Довженко Нина Александровна, канд. биол. наук / **Nina A. Dovzhenko**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1382-1428>

Банделюк Алина Сергеевна / **Alina S. Bandelyuk**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8453-797X>

Есмагамбетов Ильяс Булатович, канд. биол. наук / **Ilias B. Esmagambetov**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2063-2449>

Щербинин Дмитрий Николаевич, канд. биол. наук / **Dmitrii N. Shcherbinin**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8518-1669>

Верховская Людмила Викторовна, канд. биол. наук / **Lyudmila V. Verkhovskaya**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4731-1629>

Волчихина Светлана Владимировна / **Svetlana V. Volchihina**

Симакова Яна Владимировна / **Yana V. Simakova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5033-6931>

Бабира Владимир Федорович / **Vladimir F. Babira**

Логунов Денис Юрьевич, д-р биол. наук, академик РАН / **Denis Y. Logunov**, Dr. Sci. (Biol.), Acad. RAS

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Гинцбург Александр Леонидович, д-р биол. наук, проф., академик РАН / **Alexander L. Gintsburg**, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Acad. RAS

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Поступила 27.06.2024

После доработки 17.02.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 27 June 2024

Revised 17 February 2025

Accepted 21 March 2025



Иммуногенность «ГамЖВК, живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша» у взрослых добровольцев: слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по оптимизации метода и схемы введения

А.А. Лиджиева¹, А.Ю. Медкова¹, С.В. Куликов¹, Л.Н. Синяшина¹,
Р.А. Сюндюкова¹, И.Н. Чернышова^{1,2}, М.В. Гаврилова^{1,2}, К.К. Бушкова²,
Н.А. Снегирева², И.Н. Дьяков^{1,2}, Г.И. Каратаев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Гамалеи, д. 18, Москва, 123098, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» Российской академии медицинских наук, Малый Казенный пер., д. 5а, Москва, 105064, Российская Федерация

✉ Медкова Алиса Юрьевна; baburida@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Применяемые в настоящее время вакцины, содержащие бесклеточный или цельноклеточный коклюшный компонент, не обеспечивают стерильность иммунитета и его необходимую продолжительность, не предотвращают передачу возбудителя и распространение инфекции. Ранее живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша ГамЖВК прошла необходимые доклинические исследования и клиническое исследование, в котором была определена оптимальная доза для однократной вакцинации.

ЦЕЛЬ. Оптимизация метода и схемы введения ГамЖВК, живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша, по показателям иммуногенности в клиническом исследовании у здоровых взрослых добровольцев от 18 до 40 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании приняли участие 50 здоровых взрослых добровольцев, распределенных в 2 группы по методу введения ГамЖВК — капельно и распылением. Проведена оценка эффективности двух схем введения — однократно и двукратно с интервалом 60 сут. Для анализа использовали аспираты из носо- и ротоглотки, образцы сыворотки крови и мононуклеаров периферической крови добровольцев. Уровень специфических IgM-, IgA-, IgG-антител в сыворотке крови и секреторного IgA в аспиратах детектировали методом ИФА, титр агглютинации — в реакции агглютинации (РА). Количественное определение ДНК *Bordetella pertussis* в аспиратах проводили с помощью ПЦР в реальном времени. Клеточный иммунный ответ оценивали по синтезу цитокинов IFN- γ и IL-17 мононуклеарами периферической крови.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Вакцинация добровольцев ГамЖВК сопровождалась продукцией специфических антител класса IgG и IgA в сыворотке крови и секреторных IgA в аспиратах, увеличением титра общих противокклюшных антител в РА после однократного и двукратного введения независимо от способа введения. При повторном введении ГамЖВК наблюдался выраженный бустерный эффект в виде увеличения титра антител всех классов начиная с 14 сут. Повторное введение вакцины приводило к укорочению времени элиминации

бактерий *B. pertussis* в сравнении с первым введением (с 28 до 14 сут). Не выявлено достоверных отличий в динамике и значениях измеренных показателей при использовании распыления и капельного интраназального введения вакцины.

ВЫВОДЫ. Интраназальная иммунизация препаратом ГамЖВК способствует формированию выраженного гуморального и клеточного иммунного ответа, а также мукозального иммунитета в отношении коклюшной инфекции у взрослых добровольцев. Рекомендован капельный метод введения ГамЖВК. Сокращение времени элиминации бактерий после повторного введения свидетельствует о проявлении стерильного иммунитета, индуцированного первой вакцинацией, что в итоге может привести к снижению передачи инфекции в популяции.

Ключевые слова: коклюш; живая коклюшная вакцина; интраназальное применение; метод и схема введения; добровольцы; иммуногенность; противобактериальный иммунитет; *Bordetella pertussis*

Для цитирования: Лиджиева А.А., Медкова А.Ю., Куликов С.В., Синяшина Л.Н., Сюндюкова Р.А., Чернышова И.Н., Гаврилова М.В., Бушкова К.К., Снегирева Н.А., Дьяков И.Н., Каратаев Г.И. Иммуногенность «ГамЖВК, живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша» у взрослых добровольцев: слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по оптимизации метода и схемы введения. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):22–36. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610>

Финансирование. Государственное задание «Клиническое исследование инновационной живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша у взрослых и доклиническое изучение ее безопасности и иммуногенности на экспериментальной модели младенцев вида павиана гамадрила», номер госрегистрации 121031700333-6.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Immunogenicity of GamLPV, an intranasal live vaccine for pertussis prevention, in adult volunteers: A blind, randomised, placebo-controlled trial to optimise the method and schedule of administration

Alevtina A. Lidzhieva¹, Alisa Yu. Medkova¹, Sergey V. Kulikov¹,
Lyudmila N. Sinyashina¹, Rezida A. Sioundiukova¹, Irina N. Chernyshova^{1,2},
Marina V. Gavrilova^{1,2}, Kristina K. Bushkova², Nadezda A. Snegireva²,
Ilya N. Dyakov^{1,2}, Gennadiy I. Karataev¹

¹ National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 18 Gamaleya St., Moscow 123098, Russian Federation

² I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 5a Maly Kazenny Ln., Moscow 105064, Russian Federation

✉ Alisa Yu. Medkova; baburida@yandex.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Currently used inactivated vaccines with acellular/whole-cell pertussis components do not provide sterilising or sufficiently long-lasting immunity, nor do these vaccines prevent the spread of the pathogen or infection. A live pertussis vaccine for intranasal administration, GamLPV, has passed the necessary preclinical studies and a clinical trial that established the optimal dose for single-dose vaccination.

AIM. This study aimed to optimise the method and schedule of administration of the GamLPV intranasal live vaccine for pertussis prevention on the basis of the immunogenicity results obtained in a clinical trial involving healthy volunteers aged 18 to 40 years.

MATERIALS AND METHODS. This blind, randomised, placebo-controlled clinical trial enrolled 50 healthy adults, who were then randomised into two groups according to the method of GamLPV

administration (drops or spray). The study evaluated the efficacy of two administration schedules, including single-dose vaccination and double-dose vaccination with an interval of 60 days. The study analysed nasopharyngeal and oropharyngeal aspirates, serum samples, and peripheral blood mononuclear cells from volunteers. The levels of IgM, IgA, and IgG antibodies specific to *Bordetella pertussis* and the levels of secretory IgA antibodies were measured in serum samples and nasal aspirates, respectively, by enzyme-linked immunosorbent assay. Agglutinating antibody titres were determined by agglutination tests. The quantitative determination of *B. pertussis* DNA in aspirates used real-time polymerase chain reaction. Cell-mediated immune responses were assessed by the production of IFN- γ and IL-17 cytokines in peripheral blood mononuclear cells.

RESULTS. GamLPV administration to volunteers induced *B. pertussis*-specific IgG and IgA antibodies observed in serum samples, secretory IgA antibodies identified in aspirates, and increased titres of total antibodies to *B. pertussis* measured by agglutination tests, regardless of the vaccination schedule and the method of administration. Repeated GamLPV administration had a pronounced booster effect, as evidenced by elevated titres of antibodies of all classes from day 14. Moreover, repeated vaccination reduced the time for clearance of *B. pertussis* bacteria compared with that after the first vaccination (from 28 to 14 days). There were no significant differences in the time courses and values of the measured parameters for nasal vaccine delivery by spray and drops.

CONCLUSIONS. Intranasal vaccination with GamLPV induces pronounced humoral and cellular immune responses and nasal mucosal immunity against pertussis infection in adults. The recommended method for GamLPV administration is nasal drops. The accelerated clearance of bacteria observed after the second vaccination is indicative of sterilising immunity provided by the first vaccination, which can ultimately reduce pertussis transmission in the population.

Keywords: pertussis; live pertussis vaccine; intranasal administration; method of administration; vaccination schedule; volunteers; immunogenicity; antibacterial immunity; *Bordetella pertussis*

For citation: Lidzhieva A.A., Medkova A.Yu., Kulikov S.V., Sinyashina L.N., Sioundiukova R.A., Chernyshova I.N., Gavrilova M.V., Bushkova K.K., Snegireva N.A., Dyakov I.N., Karataev G.I. Immunogenicity of GamLPV, an intranasal live vaccine for pertussis prevention, in adult volunteers: A blind, randomised, placebo-controlled trial to optimise the method and schedule of administration. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):22–36. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610>

Funding. This study was funded under the State Assignment “A clinical trial of an innovative intranasal live vaccine for the prevention of pertussis in adults and a non-clinical study of the safety and immunogenicity of the vaccine in an infant hamadryas baboon model” (R&D Registry No. 121031700333-6).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Коклюш продолжает оставаться серьезной проблемой здравоохранения во всем мире, несмотря на проводимую в разных странах с начала 50-х годов прошлого столетия массовую вакцинацию. На фоне гиподиагностики коклюша в мире ежегодно регистрируется 20–40 млн случаев заболевания разной степени тяжести, из которых около 300 тыс. заканчиваются летальным исходом¹. В последние годы отмечается значительный рост числа лабораторно подтвержденных случаев коклюша среди подростков и взрослых [1–3], однако истинная картина заболеваемости в этих группах остается скрытой ввиду сложности диагностики и неполной отчетности о заболеваемости². Опасность коклюша, особенно для лиц пожилого возраста с хроническими соматическими заболеваниями,

сильно недооценена. Исследования показывают, что пожилые люди имеют более высокий риск смертности от коклюша, чем дети и подростки, хотя этот риск, вероятно, недооценен [4].

Для профилактики коклюша в настоящее время в мире используют препараты АКДС-вакцины, содержащей корпускулярный (цельноклеточный) коклюшный компонент (АКДС) или бесклеточный коклюшный компонент (АаКДС) в сочетании с инактивированными дифтерийным и столбнячным анатоксинами. Иногда цельноклеточные (ЦКВ) или бесклеточные коклюшные вакцины (БКВ) используют как моновакцины. По данным ВОЗ в настоящее время в 42 странах для профилактики коклюша используют препараты АаКДС-вакцины, а в 143 странах — АКДС. В последние годы АаКДС применяют для ревакцинации подростков и разрабатывают программы для ревакцинации взрослых [3].

¹ <https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/pertussis-number-of-reported-cases>

² <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=38>

Однако эти программы не получили широкого распространения даже в странах с высоким уровнем доходов. Одна из причин ограниченного использования АаКДС для ревакцинации — ее недостаточная эффективность и неспособность препятствовать размножению и передаче бактерий от человека к человеку. Этот результат представляется логичным, так как БКВ не формирует противобактерийного иммунитета и не защищает животных и людей от экспериментальной коклюшной инфекции [5, 6].

Альтернативой БКВ может быть живая интраназальная коклюшная вакцина, применяемая в виде монопрепарата для вакцинации младенцев на первом месяце жизни или для ревакцинации подростков и взрослых. Такие препараты разработаны в России (ГамЖВК) и во Франции (BPZE1) и в настоящее время проходят клинические исследования [6–13]. Вакцина, сконструированная в России, прошла необходимые этапы доклинических исследований, в том числе на экспериментальной модели двукратного введения ГамЖВК низшим приматам [14, 15] и клиническое исследование на здоровых взрослых добровольцах, определившее оптимальную дозу для однократной вакцинации при интраназальном введении вакцины [9]. Показана хорошая переносимость и иммуногенность препарата [8].

Цель работы — оптимизация метода и схемы введения ГамЖВК, живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша, по показателям иммуногенности в клиническом исследовании у здоровых взрослых добровольцев от 18 до 40 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Клиническое исследование проведено для оптимизации метода и схемы введения препарата. Проводимое исследование было проспективным рандомизированным плацебо-контролируемым с последовательным включением добровольцев, одноцентровым. Исследование проводили в соответствии с Протоколом и этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации (2013 г.), международным гармонизированным трехсторонним руководством по надлежащей клинической практике (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Harmonised Tripartite Guideline for Good Clinical Practice), а также на основании разрешения № 382 от 2 августа 2018 г., выданного Министерством здравоохранения Российской Федерации и продления разрешения (№ 410322720-1/Др от 05.06.2019).

Все добровольцы, участвовавшие в исследовании, подписали форму добровольного информированного согласия.

Соответствие добровольцев критериям включения в исследование подтверждено с помощью стандартных лабораторных тестов, данных анамнеза и физикального обследования. Основные критерии включения и невключения, значимые для оценки иммуногенности вакцины ГамЖВК и бактериальной нагрузки в носоглоточных аспиратах, приведены ниже. Полный их перечень и описание лабораторных методов представлены в онлайн приложении №1 к статье³.

Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 40 лет с верифицированным диагнозом «здоров»; отсутствие специфических IgM-антител к возбудителю коклюша, подтвержденное отрицательным результатом тестирования; уровень специфических IgG-антител к антигенам *B. pertussis* ≤45 У/мл (согласно шкале использованной тест-системы RIDASCREEN®); отсутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных мазках, подтвержденное методом ПЦР.

Критерии невключения: наличие коклюша в анамнезе; вакцинация против коклюша в течение последних 10 лет, а также любая вакцинация в течение последнего года; наличие любого заболевания, которое, по мнению исследователя, может повлиять на результаты исследования или может привести к ухудшению состояния здоровья в ходе исследования; зарегистрированные сильные поствакцинальные осложнения в анамнезе; курсовой прием лекарственных препаратов с профилактической или лечебной целью в течение 1 мес. до скрининга; участие в других клинических исследованиях или прием исследуемых препаратов в течение 3 мес. до скрининга; наличие специфических IgM-антител к *B. pertussis* и уровень IgG-антител к *B. pertussis* >45 У/мл (согласно шкале использованной тест-системы RIDASCREEN®).

Обследование добровольцев и рандомизация

Здоровые добровольцы прошли процедуры скрининга, включающие физикальный осмотр, оценку жизненно важных показателей, лабораторные исследования, ЭКГ (электрокардиография), пикфлоуметрию, а также исследование на наличие специфических антител к возбудителю коклюша в сыворотке крови и наличие бактерий *B. pertussis* в носоглотке. Соответствие всем критериям включения/невключения было подтверждено до начала исследования.

В исследовании участвовали 50 здоровых добровольцев, распределенных в 2 группы

³ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex1>

по 25 человек, различающиеся методом введения исследуемого препарата. Добровольцам первой группы препарат вводили капельно через шприц без иглы, второй — через шприц с распыляющей насадкой (актуатор). В пределах каждой группы добровольцы были распределены на вакцинированных и получивших плацебо в соотношении 4:1. Рандомизационный номер присваивали методом адаптивной рандомизации. Каждую группу делили на 3 когорты по 5, 7 и 13 человек. Для каждой из групп было предусмотрено последовательное включение когорт добровольцев с промежуточной оценкой параметров безопасности.

Рандомизацию проводили в день госпитализации. Добровольцам когорт 1, 3, 5 препарат и плацебо вводили капельным методом в каждый носовой ход, добровольцам когорт 2, 4, 6 препарат и плацебо вводили методом распыления в каждый носовой ход через актуатор. Спустя 60 ± 2 сут после первой инокуляции препарата или плацебо добровольцам соответствующих когорт повторно вводили ту же дозу препарата или плацебо, тем же способом, что и в первый раз.

Исследуемый препарат, дозы и способ введения

«ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (далее — ГамЖВК) — лиофилизат для приготовления суспензии аттенуированных бактерий в 0,9% растворе натрия хлорида, приготовлена в соответствии с проектом Регламента производства «ГамЖВК, вакцина коклюшная живая рекомбинантная, лиофилизат для приготовления суспензии для интраназального введения» на производстве филиала «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России и проконтролирована в соответствии с проектом нормативной документации «ГамЖВК, вакцина коклюшная живая рекомбинантная, лиофилизат для приготовления суспензии для интраназального введения» на производстве филиала «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Препарат вводили в дозе $(4-5) \times 10^9$ КОЕ.

Плацебо — стерильный лиофилизат стабилизатора для последующего растворения в 0,9% растворе натрия хлорида для инъекций.

Отбор образцов аспирата из ротоглотки и носоглотки

Клинический материал отбирали с помощью заднеглоточного тампона со слизистой задней стенки ротоглотки и назофарингеального зонда со слизистой носоглотки натошак до применения

полоскания или других видов исследования при хорошем освещении. Все процедуры выполняли в соответствии с СП 3.3686-21⁴. Материал с зондов смывали в 0,5 мл физиологического раствора, тщательно суспендировали с помощью пипетки и вортекса, центрифугировали при 7000 об/мин в течение 10 мин на микроцентрифуге типа Eppendorf®. Осадок использовали для выделения ДНК и ПЦР анализа, а супернатанты — для определения содержания секреторных антител класса IgA.

Получение и хранение образцов моноклеаров периферической крови для оценки клеточного иммунного ответа осуществляли по методике, описанной ранее [9].

Отбор образцов крови

Периферическую венозную кровь забирали у добровольцев в вакуумные пробирки Vacuette® (Greiner Bio-One, Австрия), содержащие активатор свертывания крови (красная крышка). Пробирки центрифугировали при 300 g в течение 20 мин для уплотнения сгустка. Затем сыворотку крови аликвотировали в отдельные пробирки типа Eppendorf® объемом 1,5 мл. Для определения антител использовали незамороженные аликвоты сыворотки крови, в которые для предотвращения бактериального пророста добавляли 0,1% натрия азид. Остальные аликвоты были заморожены для проведения повторного анализа при необходимости.

Определение бактериальной нагрузки в носоглотке добровольцев

Для молекулярно-генетического анализа использовали ДНК, выделенную из смывов, полученных с заднеглоточных мазков или назофарингеальных зондов (аспиратов). Осадки препаратов после центрифугирования обрабатывали раствором гуанидинтиоцианата с последующим выделением ДНК на сорбенте согласно данным Ю.В. Нестеровой с соавт. [16]. Для определения бактериальной нагрузки (количественное определение ДНК *B. pertussis* в аспиратах) использовали разработанную и валидированную нами ранее тест-систему на основе ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ) для определения количества геном-эквивалентов (ГЭ) ДНК *B. pertussis* в образцах [16]. В качестве параметра оценки скорости элиминации бактерий использовали время после первого или повторного интраназального введения ГамЖВК до момента, когда количество ГЭ *B. pertussis* в аспиратах вакцинированных добровольцев достигало значений меньших

⁴ СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», пункт XXXVII Профилактика коклюша.

или равных усредненному количеству ГЭ в аспиратах добровольцев, получивших плацебо.

Оценка уровня специфических противококлюшных IgM-, IgG- и IgA-антител в сыворотке крови добровольцев

Специфические противококлюшные IgM-, IgA- и IgG-антитела к антигенам *B. pertussis* определяли в сыворотке крови добровольцев методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов RIDASCREEN® Bordetella IgM (Lot: 12426, R-Biopharm, Германия), RIDASCREEN® Bordetella IgA (Lot: 13316, R-Biopharm, Германия) и RIDASCREEN® Bordetella IgG (Lot: 11037, R-Biopharm, Германия) соответственно. Анализ проводили согласно инструкциям производителя. IgM-антитела определяли только на этапе скрининга. Оценка уровня IgG- и IgA-антител проводили в динамике: в день скрининга перед введением препарата или плацебо на 8, 15, 29, 60 сут после первой и повторной вакцинации добровольцев. Повторную инокуляцию проводили на 60 сут после первой вакцинации; кровь для определения уровня специфических антител забирали перед введением препарата или плацебо.

Измерение уровня секреторного IgA в аспиратах в те же сроки проводили с использованием коммерческой тест-системы RIDASCREEN® Bordetella IgA (R-Biopharm, Германия), предназначенной для определения IgA в сыворотке крови. Измерение проводили в соответствии с инструкциями производителя с модификациями. Учитывая низкий уровень специфических IgA-антител в аспиратах в сравнении с сывороткой крови, анализируемые образцы разводили в 2 раза для проведения реакции, тогда как образцы сывороток крови рекомендуется разводить в 100 раз. Полученное значение (выраженное в У/мл) пересчитывали с поправкой на разведение образцов.

Определение коклюшных антител в реакции агглютинации (РА). Титр антител к *B. pertussis* в сыворотке крови добровольцев определяли с помощью «Диагностикума коклюшного жидкого» (ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова, Россия). Образцы сыворотки разводили в 20, 40, 80, 160 раз. Результат РА оценивали в соответствии с инструкцией производителя. Положительной реакцией в РА является степень агглютинации «+++».

Исследование параметров клеточного иммунного ответа. Клеточный иммунный ответ оценивали по синтезу цитокинов (интерферон гамма, IFN- γ и интерлейкин-17, IL-17) мононуклеарами периферической крови (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) добровольцев в динамике

(исходная точка, 8, 15, 29, 60 сут) после однократной и двукратной интраназальной вакцинации добровольцев вакциной ГамЖВК.

Культивирование клеток для оценки уровня синтезируемых цитокинов в супернатанте. PBMC вносили в лунки плоскодонных культуральных 96-луночных планшетов по 10^6 клеток в объеме 150 мкл. Затем к клеткам добавляли в качестве контроля 50 мкл полной среды (питательная среда RPMI-1640 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 1% глутамина, 1% натрия пирувата, пенициллина/стрептомицина) или 50 мкл взвеси термически инактивированных коклюшных бактерий до конечного соотношения 10^8 бактерий на 10^6 PBMC и инкубировали в течение 24 ч. По окончании инкубации супернатанты собирали, замораживали при минус 20 °C и хранили в замороженном состоянии до постановки ИФА.

Анализ содержания цитокинов в культуральной жидкости. Количественный анализ цитокинов IFN- γ и IL-17 в культуральных PBMC проводили при помощи тест-систем ИФА (ООО «Цитокин», Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Образцы супернатантов предварительно не разводили; все разведения делали в соответствии с инструкцией производителя тест-систем. Оптическую плотность определяли при длине волны 450 нм. Содержание цитокинов (пг/мл) определяли по калибровочной кривой, построенной по калибровочным образцам.

Для оценки индукции клеточного ответа рассчитывали прирост уровня цитокинов на 7–60 сут после каждого введения вакцины. Индукцию после первого введения рассчитывали в сравнении с уровнем цитокинов в исходной точке (0 сут), индукцию после повторного введения вакцины – в сравнении с уровнем цитокинов на 60 сут исследования. Если прирост отсутствовал или уровень цитокинов был ниже, чем в исходной точке (перед введением вакцины), прирост считали равным нулю.

Статистическую обработку данных по эффективности иммунного ответа на введение ГамЖВК проводили с помощью программного обеспечения GraphPad Prism. Нормальность распределения оценивали с помощью теста Колмогорова – Смирнова. Для статистической обработки и оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. При оценке гуморального ответа определяли достоверность различий измеряемых параметров в контрольных точках с их значениями в исходной точке (до вакцинации) среди добровольцев, получивших плацебо/вакцину, разными методами после первой и второй

вакцинации. При повторной вакцинации рассчитывали достоверность различий в сравнении со значениями на 60 сут исследования (перед повторным введением вакцины). При оценке клеточного иммунного ответа оценивали достоверность различий кратности возрастания уровня индуцированных цитокинов. Данные представлены на *рисунках 1 и 2* в виде медианы и межквартильного интервала. Для оценки достоверности различий между сравниваемыми группами для каждой контрольной точки проводили групповой анализ с использованием множественного *t*-теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Один из 50 добровольцев, включенных в исследование, отказался от исследования после рандомизации до введения препарата, поэтому в итоговый анализ было включено 49 добровольцев. Согласно Протоколу в исследовании приняли участие серонегативные добровольцы с уровнем IgG-антител к антигенам *B. pertussis* ≤ 14 У/мл (согласно шкале использованной тест-системы RIDASCREEN®), названные «наивными» добровольцами (НД), и добровольцы с уровнем IgG-антител в диапазоне 15–45 У/мл, названные «контактными» добровольцами (КД). Включение в исследование серопозитивных добровольцев и выбор порогового значения IgG-антител основан на результатах серологического анализа популяции потенциальных участников предыдущего этапа клинического исследования и обоснован нами ранее [8, 9]. Распределение добровольцев по наличию специфических IgG-антител приведено в *таблице 1*.

Характеристики гуморального ответа, индуцированного двукратной иммунизацией взрослых добровольцев

Ранее было показано, что двукратное введение ГамЖВК капельно или с помощью актуатора показало ее безопасность и хорошую переносимость взрослыми добровольцами [10]. В рамках проведенного исследования в группах, получивших вакцину с помощью распыления

через актуатор и капельно, не было выявлено достоверных различий измеренных параметров иммунного ответа. По этой причине дальнейший анализ был направлен на изучение иммунного ответа в общей популяции добровольцев без разделения по методу введения препарата. Для изучения особенностей формирования иммунного ответа у добровольцев в зависимости от исходного серологического статуса дополнительно оценивали иммунный ответ на вакцинацию в подгруппах НД и КД.

Определение IgG- и IgA-антител в сыворотке крови вакцинированных добровольцев

На *рисунке 1А* представлены результаты определения уровня IgG-антител в сыворотке крови добровольцев общей группы, включающей НД и КД. Достоверные и более чем двукратные различия ($p \leq 0,001$) медиан абсолютных значений уровня IgG-антител в сравнении с исходным уровнем и уровнем в группе плацебо выявляли уже на 14 сут после введения вакцины. К 28 сут медиана значений IgG-антител в общей группе возрастала в 2,8 раза, а к 74 сут (2 нед. после повторного введения) — в 3,8 раза в сравнении со значением на момент начала исследования. Уровень IgG-антител в сыворотке крови добровольцев, получивших плацебо, оставался неизменным на протяжении всего срока наблюдения.

Схожую картину наблюдали в подгруппах НД и КД. Достоверные различия между исходным уровнем IgG-антител и плацебо выявляли в одни и те же сроки — на 14 сут после вакцинации, однако абсолютные значения уровня IgG-антител в подгруппах значимо отличались на протяжении всего срока наблюдения (*рис. 1В*).

Повторное введение вакцины привело к бустерному эффекту в общей группе, а именно дальнейшему нарастанию уровня IgG-антител. Более выраженную динамику, в сравнении с НД, наблюдали у КД как после первого, так и после повторного введения бактерий. Аналогичная динамика отмечена нами в экспериментах с низшими приматами. Первая иммунизация

Таблица 1. Распределение участников в подгруппах наивных и контактных добровольцев по наличию специфических противокклюшных IgG-антител к *B. pertussis* в сыворотке крови

Table 1. Distribution of volunteers to the naïve and pre-exposed subgroups by the presence of IgG antibodies specific to *B. pertussis* in their serum samples

Метод введения <i>Method of administration</i>	Наивные добровольцы <i>Naïve volunteers</i>	Контактные добровольцы <i>Pre-exposed volunteers</i>
Капельное введение / <i>Drops</i>	8	12
Распыление / <i>Spray</i>	9	10
Суммарно / <i>Total</i>	17	22
Плацебо / <i>Placebo</i>	Не распределялись (10 человек) / <i>Not allocated to subgroups (10 persons)</i>	

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

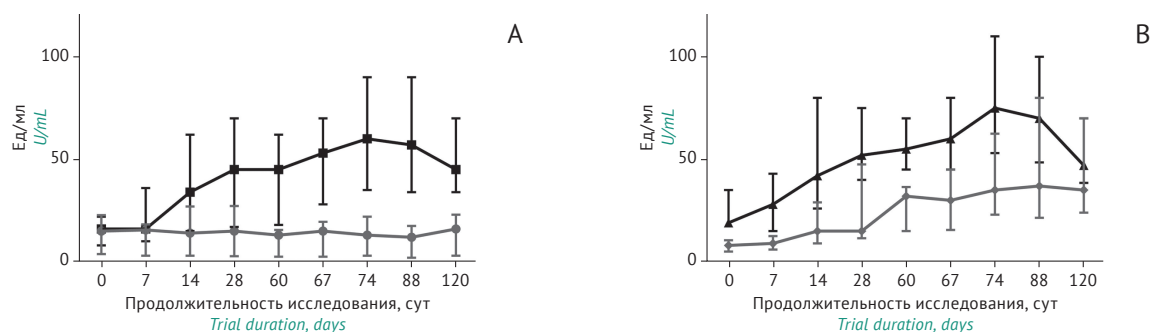


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Иммунный ответ на вакцинацию здоровых добровольцев. Уровни IgG-антител к *B. pertussis*: А – сравнение абсолютных значений уровня IgG-антител в сыворотке крови вакцинированных добровольцев общей группы (■) и добровольцев, получивших плацебо (◆); В – сравнение абсолютных значений уровня IgG-антител в подгруппах наивных добровольцев (◆) и контактных добровольцев (▲).

Fig. 1. Immune responses to vaccination in healthy volunteers. Levels of IgG antibodies to *B. pertussis*. A, comparison of absolute serum IgG levels of vaccinated volunteers (■) and volunteers who received placebo (◆); B, comparison of absolute serum IgG levels in subgroups of naïve (◆) and pre-exposed (▲) vaccinated volunteers.

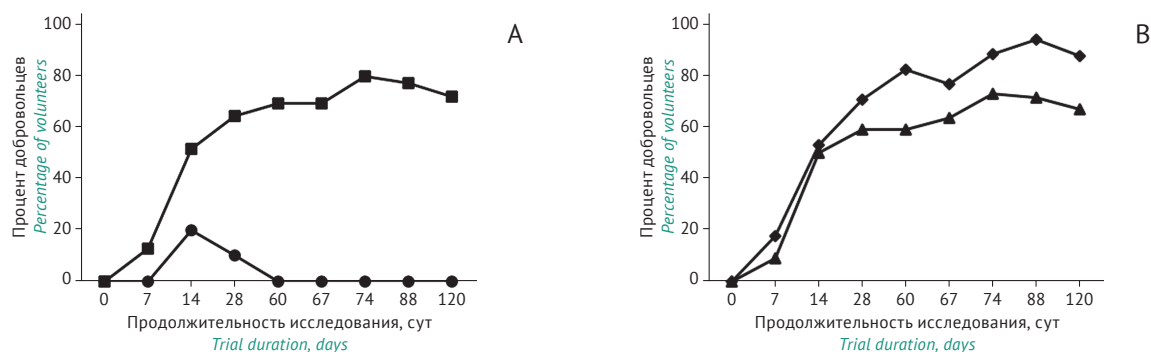


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Доля добровольцев с более чем двукратным возрастанием уровня IgG-антител к *B. pertussis* в сыворотке крови в разные временные точки: А – сравнение общей группы вакцинированных независимо от исходного уровня антител (■) и группы плацебо (◆); В – сравнение подгрупп наивных добровольцев (◆) и контактных добровольцев (▲).

Fig. 2. Percentage of volunteers with a more than two-fold increase in serum IgG antibodies to *B. pertussis* at different time points. A, comparison of the vaccinated group in total, regardless of the baseline level of antibodies (■), and the placebo group (◆); B, comparison of subgroups of naïve (◆) and pre-exposed (▲) vaccinated volunteers.

или экспериментальная инфекция вирулентными бактериями индуцировала существенно меньший уровень антител в сыворотке крови и менее выраженную динамику процесса в сравнении с повторной и третьей иммунизацией или экспериментальной инфекцией [14, 15]. В сыворотке крови всех добровольцев, получивших вакцину, были достигнуты уровни антител ≥ 18 Ед/мл, которые превышали границу серопозитивности, установленную производителем набора RIDASCREEN® Bordetella IgG.

На рисунке 2 приведено изменение доли добровольцев, в сыворотке крови которых было обнаружено как минимум двукратное возрастание уровня IgG-антител в разные сроки после однократной и двукратной вакцинации. После однократной вакцинации доля таких добровольцев в общей группе возрастает до 69,0%, тогда как после повторной

вакцинации – до 79,5%. Подгрупповой анализ показал, что двукратное превышение уровня IgG-антител в сыворотке крови достигалось у 93,8 и 72,7% – НД и КД соответственно. Это представляется вполне объяснимым из-за более высокого медианного значения исходного уровня IgG-антител в подгруппе КД (рис. 1). При повторном введении вакцины в обеих подгруппах наблюдали возрастание доли добровольцев, достигших более чем двукратной сероконверсии (бустерный эффект), что сопоставимо с данными по возрастанию абсолютного уровня IgG-антител в крови.

Полученные данные демонстрируют достижение контрольной точки иммуногенности вакцин: более чем двукратное увеличение значений IgG-антител у $\geq 80\%$ вакцинированных добровольцев главным образом за счет лиц подгруппы НД.

Уровень IgA-антител оценивали с использованием тех же подходов, что и уровень IgG-антител. Результаты исследования приведены на рисунках 3 и 4.

У 84,6% вакцинированных в общей группе на 14 сут после первого введения вакцины отмечается достоверный ($p < 0,0001$) ≥ 2 -кратный прирост уровня специфических IgA-антител в сыворотке крови. Максимальное содержание IgA-антител, превышающее исходное значение после однократной вакцинации в 9,2 раза, отмечено на 28 сут. После ревакцинации на 60 сут, как и в случае с IgG-антителами, наблюдается бустерный эффект, проявляющийся в росте уровня IgA-антител уже на 7 сут после повторного введения препарата, при этом на 14 сут медианное значение уровня IgA-антител было достоверно ($p < 0,052$) выше уровня, зарегистрированного перед повторной вакцинацией.

Таким образом, бустерный эффект повторной вакцинации выражался не просто в возрастании уровня IgA-антител, но был достоверно выше уровня IgA-антител после первой вакцинации. На 14 сут после ревакцинации у 97,4% добровольцев наблюдали возрастание уровня IgA-антител ≥ 2 раза.

Интересно отметить сходства и различия в динамике доли добровольцев, достигших двукратного превышения исходных уровней противокклюшных IgG- и IgA-антител при анализе подгрупп с учетом исходного серологического статуса добровольцев. Если в подгруппе НД после однократной вакцинации двукратное возрастание IgG-антител отмечали у 82,4% добровольцев, повторная вакцинация приводила к возрастанию этого показателя до 93,8%. При оценке уровня IgA-антител в этой же подгруппе доля добровольцев с двукратным превышением исходного

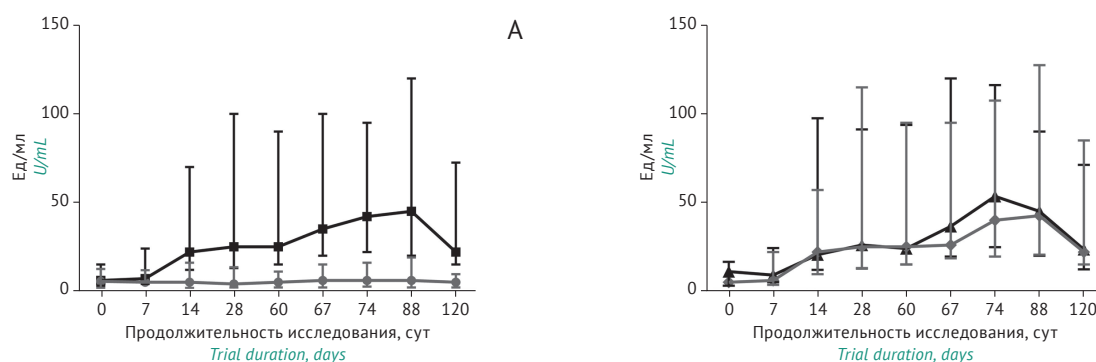


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Иммунный ответ на вакцинацию здоровых добровольцев. Уровни IgA-антител к *B. pertussis*: А – сравнение абсолютных значений уровня IgA-антител в сыворотке крови вакцинированных добровольцев в общей группе (■) и добровольцев, получивших плацебо (●); В – сравнение абсолютных значений уровня IgA-антител в подгруппах наивных добровольцев (◆) и контактных добровольцев (▲).

Fig. 3. Immune responses to vaccination in healthy volunteers. Levels of IgA antibodies to *B. pertussis*. A, comparison of absolute serum IgA levels of vaccinated volunteers (■) and volunteers who received placebo (●); B, comparison of absolute serum IgA levels in subgroups of naïve (◆) and pre-exposed (▲) vaccinated volunteers.

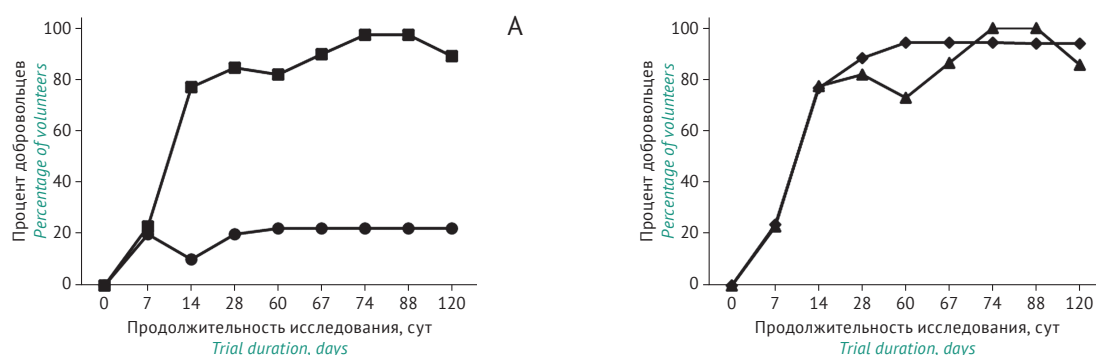


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 4. Доля добровольцев с более чем двукратным возрастанием уровня IgA-антител к *B. pertussis* в сыворотке крови в разные временные точки: А – сравнение общей группы вакцинированных, независимо от исходного уровня антител (■) и группы плацебо (●); В – сравнение подгрупп наивных добровольцев (◆) и контактных добровольцев (▲).

Fig. 4. Percentage of volunteers with a more than two-fold increase in serum IgA antibodies to *B. pertussis* at different time points. A, comparison of the vaccinated group in total, regardless of the baseline level of antibodies (■), and the placebo group (●); B, comparison of subgroups of naïve (◆) and pre-exposed (▲) vaccinated volunteers.

уровня IgA-антител достигала максимальных значений (94,1%) уже после однократной вакцинации и сохранялась на этом уровне до конца исследования. В подгруппе КД наблюдали бустерный эффект второй вакцинации не только в отношении абсолютных уровней IgA-антител в крови, но и в отношении доли добровольцев с двукратным возрастанием IgA-антител. Так, если после однократной вакцинации доля таких участников составляла 81,8%, то на 14 сут после повторной вакцинации двукратное возрастание уровня IgA-антител наблюдали уже у 100% добровольцев в подгруппе КД. Эти данные представляются особенно значимыми в свете того, что IgA является основным классом антител, обеспечивающих местный иммунитет слизистых дыхательных путей, которые служат входными воротами для коклюшной инфекции. Выявленный нами высокий уровень IgA-антител в крови сопоставим с уровнем IgA-антител в секретах слизистых оболочек рото- и носоглотки (см. ниже). Таким образом, формирование мощного IgA-ответа при вакцинации ГамЖВК даже после однократной вакцинации наивных добровольцев с последующим достоверным его усилением при повторной вакцинации может играть исключительно важную роль в формировании иммунитета против *B. pertussis* у вакцинированных пациентов.

Определение суммарных агглютинирующих антител против бактерий возбудителя коклюша в сыворотке крови добровольцев в реакции агглютинации

Реакция агглютинации (РА) является рекомендованным методом оценки противокклюшного иммунитета, позволяющим оценить содержание агглютинирующих антител (антитела, перекрестно связывающие бактериальные клетки) независимо от их изотипа. На рисунке 5 представлены результаты оценки доли добровольцев, у которых в РА зарегистрирован результат «+++» в разведении 1:80. Отчетливо наблюдается бустерный эффект повторной вакцинации. Если после однократного введения вакцины результат «+++» в разведении 1:80 наблюдается у 48% добровольцев, то после повторной вакцинации их доля возрастает до 85%. Схожая динамика отмечена в подгруппах НД и КД, причем доля серопозитивных добровольцев в РА ожидаемо быстрее возрастает в подгруппе КД, особенно после однократной вакцинации. После повторной вакцинации доля серопозитивных добровольцев в подгруппе КД остается несколько выше, чем в подгруппе НД.

Таким образом, вакцинация ГамЖВК обеспечивает выраженный гуморальный ответ, регистрируемый как по продукции специфических

IgG- и IgA-антител, так и по суммарным агглютинирующим антителам в РА после первого введения препарата и его усиление при повторном введении вакцины (бустерный эффект). Динамика ответа несколько отличается у добровольцев с различным серологическим статусом на момент их включения в исследование и выражается в более интенсивном росте количества иммуноглобулинов после повторной вакцинации или при вакцинации добровольцев из подгруппы НД.

Определение секреторного IgA в аспиратах не является в настоящее время общепринятым критерием оценки иммуногенности вакцин или рутинно применяемым тестом при диагностике коклюша. Несмотря на то что IgA-антитела – второй класс антител по концентрации в крови после IgG, они традиционно считаются основными, обеспечивающими защиту слизистых оболочек. Формирование защиты слизистых играет важную роль в реализации напряженного иммунитета при коклюше, поскольку входными воротами *B. pertussis* являются в первую очередь слизистые оболочки респираторного тракта. Поэтому для полноценного анализа поствакцинального иммунитета представлялось актуальным оценить уровень IgA-антител к антигенам *B. pertussis* в мазках со слизистых оболочек респираторного тракта.

Важными причинами низкой распространенности теста являются сложность стандартизации взятия аспиратов для исследования и отсутствие коммерческих наборов для регистрации антител в аспиратах. В настоящем исследовании для оценки уровня секреторных IgA использовали набор для определения IgA-антител в сыворотке крови в соответствии с модификациями, описанными в разделе «Материалы и методы». Поскольку указанные наборы не имеют калибровочных и стандартных образцов, предложенный метод может применяться только для регистрации изменения количества секреторных IgA в динамике, а не в абсолютных значениях.

На практике реализуются два методических подхода для взятия аспиратов: 1) использование промывки ротоглотки и отсоса биологического материала с помощью специальных приспособлений и 2) взятие назофарингеальных и/или ротоглоточных мазков в пробирки с физиологическим раствором. Первый метод представляется более стандартным и позволяет собрать большее количество секрета, содержащего IgA, но более сложен и требует дополнительной регламентации для клинических учреждений. Второй метод широко используют при диагностических манипуляциях, он регламентирован, но не позволяет

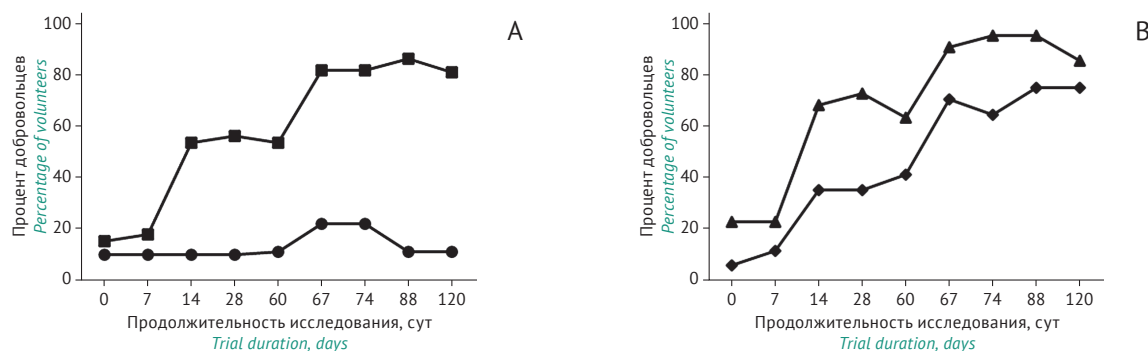


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 5. Доля добровольцев, у которых в реакции агглютинации зарегистрирован результат «+++» в разведении 1:80 и выше в различные сроки после введений вакцины: А — сравнение общей группы вакцинированных независимо от исходного уровня антител (■) и группы плацебо (●); В — сравнение подгрупп наивных добровольцев (◆) и контактных добровольцев (▲).

Fig. 5. Percentage of volunteers with a +++ result in the agglutination test at a $\geq 1:80$ dilution at different time points after vaccination. A, comparison of the vaccinated group in total, regardless of the baseline level of antibodies (■), and the placebo group (●); B, comparison of subgroups of naïve (◆) and pre-exposed (▲) vaccinated volunteers.

стандартно и полноценным образом собрать назофарингеальные и ротоглоточные аспираты. Его применение заранее предполагает большой разброс значений любых измеряемых параметров, в том числе секреторных антител и содержания анализируемой микрофлоры носоглотки. В рамках настоящего исследования проведено параллельное исследование образцов, полученных в результате анализа смывов назальных и назофарингеальных мазков. Биологический материал собирали в соответствии с описанием, приведенным в разделе «Материалы и методы». В результате сравнительного определения количества секреторных IgA в супернатантах и количества ГЭ ДНК *B. pertussis* в осадках был выявлен большой нерегулярный разброс измеренных величин при обоих способах взятия материала и его минимизация при смыве зондов и последующей пробоподготовке образцов для анализа в одной пробирке. Для дальнейших исследований выбран именно этот метод — смыв назальных и назофарингеальных мазков в одной пробирке.

Оценка значений секреторных IgA-антител в общей группе показала, что на 28 сут после первого введения вакцины уровень секреторных антител вышел на плато и сохранялся на этом уровне до конца исследования. При этом уже на 14 сут после первого введения отмечался достоверный ($p < 0,01$) прирост IgA-антител по сравнению с исходным уровнем и уровнем в группе плацебо. Следует отметить большой разброс значений содержания секреторных IgA-антител, тем не менее различия с группой плацебо оставались достоверными на протяжении всего исследования. Динамика секреторных IgA-антител в подгруппах НД и КД принципиально не отличалась от общей группы (результаты не представлены). Не было выявлено достоверного бустерного

увеличения уровня IgA-антител в смывах после повторной вакцинации добровольцев, что может быть связано с упомянутым разбросом значений показателя. Тем не менее на фоне практически полного отсутствия секреторных IgA-антител в группе плацебо у 82,1% вакцинированных добровольцев регистрировали более чем двукратный прирост уровней этого показателя. Полученные данные свидетельствуют о том, что интраназальное введение вакцины добровольцам приводит к выработке специфических IgA-антител как в крови, так и в секретах слизистых оболочек носо- и ротоглотки.

Характеристика некоторых параметров клеточного иммунного ответа после интраназальной вакцинации добровольцев препаратом ГамЖВК

При оценке клеточного ответа определяли индукцию синтеза IFN- γ и IL-17 в РВМС добровольцев, вакцинированных ГамЖВК или получивших плацебо. Поскольку абсолютные значения уровней индуцируемых цитокинов значительно варьировали, в том числе в группе плацебо, в эксперименте оценивали индуцируемый прирост уровня цитокинов на 7–60 сут после каждого введения вакцины (раздел «Материалы и методы»).

Активацию Th1-лимфоцитов оценивали по индукции синтеза IFN- γ *in vitro*. Медианные значения прироста уровня IFN- γ в группе вакцинированных добровольцев достоверно превышали эти значения в группе плацебо на 7, 14 и 28 сут после первого введения вакцины ($p = 0,0047$, $p = 0,0215$ и $p = 0,0092$ соответственно). После второй вакцинации не обнаружена достоверная индукция синтеза IFN- γ по сравнению с показателями на 60 сут (перед повторным введением), что может быть обусловлено более высоким уровнем продукции

IFN- γ к моменту повторной вакцинации относительно показателей дня начала исследования.

Для IL-17, характеризующего активацию Th17-клеток, наблюдалась несколько иная картина. В сравнении с группой плацебо достоверно более сильную индукцию синтеза IL-17 наблюдали в группе вакцинированных на 7 и 14 сут после первого введения вакцины ($p=0,0010$ и $p=0,0046$ соответственно), а также на 7 сут после повторной вакцинации ($p=0,0187$). Графики, иллюстрирующие прирост уровня цитокинов после каждого введения вакцины, представлены в онлайн приложении №2⁵.

Полученные данные в отношении IFN- γ согласуются с данными A. Lin с соавт. [17], согласно которым введение живой аттенуированной вакцины против *B. pertussis* BPZE1 приводило к индукции Th1-клеток, продуцирующих IFN- γ и TNF- α . В то же время авторы не обнаружили индукции Th17-клеток, тогда как в нашем исследовании медианные значения прироста уровня IL-17 достоверно превышали таковые в группе плацебо на ранних сроках после первого и повторного введения вакцины. Имеющиеся различия, возможно, обусловлены разными методами оценки клеточного ответа. A. Lin с соавт. в своем исследовании [17] оценивали увеличение доли клеток-продуцентов цитокинов, тогда как в нашем исследовании оценивали количество индуцируемых цитокинов в ответ на специфическую активацию *in vitro*.

Динамика размножения аттенуированных бактерий *B. pertussis* в верхних дыхательных путях добровольцев после одно- и двукратного интраназального применения вакцины ГамЖВК

Проведенные нами ранее исследования на экспериментальной модели низших приматов указывали на более эффективное выведение бактерий *B. pertussis* после повторного контакта с возбудителем [14, 18, 19]. Бактериальную нагрузку определяли по количеству ГЭ ДНК *B. pertussis* в аспиратах в различные сроки после вакцинации. Протокол настоящего исследования включал два способа интраназального введения вакцины – капельно и распылением через аэрозоль, а использованный метод рандомизации не предполагал раздельное посещение клиники для добровольцев опытной и контрольной групп. Вероятно, по этой причине при оценке бактериальной нагрузки был выявлен большой разброс значений ГЭ в большинстве точек наблюдения как в группе вакцинированных, прежде всего получивших препарат с помощью распыления, так и в группе плацебо. Можно предположить,

что этот факт связан с передачей аттенуированных бактерий от вакцинированных добровольцев к добровольцам группы плацебо на совместных визитах в клинику. Аналогичное явление описано нами ранее при передаче аттенуированных бактерий от иммунизированных детенышей обезьян их матерям в исследовании иммуногенности и защитной активности препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян *Papio hamadryas*. Разброс значений бактериальной нагрузки у добровольцев, получивших плацебо, не позволил корректно определить количественные значения времени выведения бактерий (раздел «Материалы и методы»). Однако измеренная динамика изменения количества ГЭ в аспиратах вакцинированных добровольцев указывала на более высокую эффективность элиминации возбудителя после повторной вакцинации в сравнении с первой.

В связи с трудностями количественной оценки времени элиминации бактерий в настоящем исследовании в качестве дополнительного критерия оценки элиминации бактерий после введения препарата вакцины была использована интегральная характеристика процесса – площадь под кривой (area under the curve, AUC) содержания ГЭ в носоглотке добровольцев. Проведенные расчеты показали, что значение AUC в общей группе после повторного введения препарата составила 9,0% от значения AUC после первого введения. При этом в подгруппе НД разница значений AUC после второй вакцинации была больше и составляла 4,8% в сравнении с первой вакцинацией. В подгруппе КД значение AUC после первого введения препарата составляло 22,7% от значения AUC после его первого введения в подгруппе НД. Представленные результаты полностью согласуются с выводами, сделанными нами и C. Lochт с соавт. [18] в процессе исследований на экспериментальной модели низших приматов о том, что повторное введение аттенуированных бактерий или вирулентных бактерий *B. pertussis* обезьянам, интраназально иммунизированным вакциной ГамЖВК или BPZE1, приводит к сокращению длительности и количества персистирующих бактерий в носоглотке обезьян после повторного введения бактерий возбудителя коклюша [14, 18].

Измеренные параметры (бактериальная нагрузка, скорость элиминации бактерий из дыхательных путей) являются важными характеристиками защитной активности любой коклюшной вакцины, способной к формированию стерильного противобактерийного иммунитета у человека

⁵ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex2>

или животного. Примером анализа таких параметров является оценка противобактерийного иммунитета, индуцированного АаКДС, выполненная J.M. Warfel с соавт. [5, 6] на экспериментальной модели обезьян вида павиан анубис. Показано, что, в отличие от повторного экспериментального заражения животных и частичной иммунизации АКДС, содержащей цельноклеточный коклюшный компонент, иммунизация АаКДС не привела к сокращению времени элиминации вирулентных бактерий *B. pertussis* из организма. По мнению авторов, это свидетельствует о неспособности АаКДС индуцировать стерильный иммунитет против коклюша. Возможность использования сконструированных нами аттенуированных бактерий *B. pertussis* в составе ГамЖВК для оценки стерильного иммунитета подтверждена приоритетом на изобретение [19].

Таким образом, результаты клинического исследования свидетельствуют о формировании противобактерийного стерильного иммунитета, индуцированного однократным интраназальным введением ГамЖВК. Повторное введение препарата демонстрирует наличие стерильного иммунитета, сформированного после первого введения, и, скорее всего, усиливает его напряженность.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное клиническое исследование посвящено выбору метода и схемы введения добровольцам живой рекомбинантной коклюшной вакцины интраназального применения. При использовании для вакцинации капельного метода и распыления через актуатор не было выявлено значимых преимуществ ни одного из методов. Большой разброс измеренных значений показателей иммунного ответа, отмеченный при введении вакцины через актуатор, указал на целесообразность использования капельного метода на следующих этапах клинического исследования.

Интраназальная вакцинация ГамЖВК обеспечивает выраженный гуморальный ответ, регистрируемый по измерению как специфических IgG- и IgA-антител, так и суммарных коклюшных антител в реакции агглютинации (РА) после первого введения препарата и его усиление

при повторном введении (бустерный эффект). Динамика IgG- и IgA-антител и титра антител в РА отличается в группах серонегативных и серопозитивных добровольцев. Различия проявляются в более интенсивном росте содержания IgG- и IgA-антител после повторной вакцинации или при вакцинации добровольцев, в крови которых уже содержались специфические IgG-антитела, выработанные, вероятно, в результате предыдущего контакта с возбудителем коклюша. Интраназальное введение вакцины добровольцам приводит к росту специфического секреторного IgA в секретах носо- и ротоглотки.

Оценка некоторых механизмов индукции клеточного иммунитета показала активацию Th1- и Th17-лимфоцитов при интраназальном введении вакцины. Достоверно более сильную индукцию Th1-лимфоцитов наблюдали после первого введения вакцины, тогда как активация Th17-лимфоцитов имела место на ранних сроках (7 сут) как после первой, так и после второй вакцинации.

Уровень и динамика сероконверсии, динамика роста секреторных антител и доля добровольцев, достигших целевых уровней показателей, соответствуют контрольным точкам протокола.

Продemonстрировано, что интраназальная вакцинация добровольцев формирует противобактерийный стерильный иммунитет, индуцированный однократным введением ГамЖВК. Повторное введение препарата усиливает гуморальный, клеточный и противобактерийный иммунитет.

Анализ результатов использования назальных и/или назофарингеальных зондов для отбора аспиратов, необходимых для количественного определения бактериальной нагрузки методом ПЦР РВ и уровня/динамики секреторных IgA, позволил предложить совместное применение зондов и смыв материала в одну пробирку с физиологическим раствором. После центрифугирования супернатант следует использовать для определения уровня секреторных IgA, а осадок – для выделения ДНК, регистрируемой с помощью ПЦР РВ.

При проведении следующих этапов клинических исследований ГамЖВК необходимо предусмотреть отдельные визиты добровольцев, получивших вакцину и плацебо.

Литература/References

1. Macina D, Evans KE. *Bordetella pertussis* in school-age children, adolescents and adults: a systematic review of epidemiology and mortality in Europe. *Infect Dis Ther.* 2021;10(4):2071–118. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00520-9>
2. Macina D, Evans KE. *Bordetella pertussis* in school-age children, adolescents, and adults: a systematic review of epidemiology, burden, and mortality in Africa. *Infect Dis Ther.* 2021;10(3):1097–113. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00442-6>
3. Kardos P, Correia de Sousa J, Heininger U, Konstantopoulos A, MacIntyre CR, Middleton D, et al. Understanding the impact of adult pertussis and current approaches to vaccination: A narrative review and expert panel recommendations. *Hum Vaccin Immunother.* 2024;20(1):2324547. <https://doi.org/10.1080/21645515.2024.2324547>
4. Kandeil W, Atanasov P, Avramioti D, Fu J, Demartean N, Li X. The burden of pertussis in older adults: What is the role

- of vaccination? A systematic literature review. *Expert Rev Vaccines*. 2019;18(5):439–55. <https://doi.org/10.1080/14760584.2019.1588727>
5. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(2):787–92. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314688110>
 6. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Comparison of three whole-cell pertussis vaccines in the baboon model of pertussis. *Clin Vaccine Immunol*. 2015;23(1):47–54. <https://doi.org/10.1128/CI.00449-15>
 7. Семин ЕГ, Сinyaшина ЛН, Медкова АЮ, Каратаев ГИ. Конструирование рекомбинантных аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* генотипа ptxP3. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018;(4):33–41. Semin EG, Sinyashina LN, Medkova AYU, Karataev GI. Construction of recombinant attenuated *Bordetella pertussis* bacteria of ptxP3 genotype. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(4):33–41 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-33-41>
 8. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Сinyaшина ЛН, Сюндюкова РА, Дьяков ИН и др. Клинические исследования безопасности и переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):114–9. Medkova AYU, Lidzhieva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Sioundiukova RA, Dyakov IN, et al. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Drug Development & Registration*. 2021;10(1):114–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119>
 9. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Сinyaшина ЛН, Сюндюкова РА, Снегирева НА и др. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖБК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):706–20. Medkova AYU, Lidzhieva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Syundyukova RA, Snegireva NA, et al. Immunogenicity of the drug “Live intranasal vaccine for the prevention of pertussis” (GamLPV) with a single use in healthy volunteers. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* 2021;98(6):706–20 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>
 10. Каратаев ГИ, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Сinyaшина ЛН, Сюндюкова РА, Куликов СВ и др. Разработка способа и схемы применения живой рекомбинантной коклюшной вакцины «ГамЖБК». Безопасность и переносимость двукратной интраназальной вакцинации здоровыми взрослыми добровольцами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):202–8. Karataev GI, Medkova AYU, Semin EG, Sinyashina LN, Sioundiukova RA, Kulikov SV et al. Development of a method and a scheme for the use of a live recombinant vaccine “GamLPV”. Safety and tolerability of double intranasal vaccination of healthy adult volunteers. *Drug Development & Registration*. 2022;11(3):202–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-202-208>
 11. Li R, Lim A, Ow ST, Phoon MC, Loch C, Chow VT, et al. Development of live attenuated *Bordetella pertussis* strains expressing the universal influenza vaccine candidate M2e. *Vaccine*. 2011;29(33):5502–11. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.052>
 12. Jahnmatz M, Richert L, Al-Tawil N, Storsaeter J, Colin C, Bauduin C, et al. Safety and immunogenicity of the live attenuated intranasal pertussis vaccine BPZE1: A phase 1b, double-blind, randomised, placebo-controlled dose-escalation study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(11):1290–301. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30274-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30274-7) Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2020;20(9):e215. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30628-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30628-9)
 13. Keech C, Miller VE, Rizzardi B, Hoyle C, Pryor MJ, Ferrand J, et al. Immunogenicity and safety of BPZE1, an intranasal live attenuated pertussis vaccine, versus tetanus–diphtheria–acellular pertussis vaccine: a randomised, double-blind, phase 2b trial. *Lancet*. 2023;401(10379):843–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02644-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02644-7)
 14. Медкова АЮ, Сinyaшина ЛН, Амичба АА, Семин ЕГ, Шевцова ЗВ, Матуа АЗ и др. Доклинические исследования безопасности, иммуногенности и защитной активности аттенуированных бактерий на экспериментальной модели *Macaca mulatta*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(4):312–23. Medkova AYU, Sinyashina LN, Amichba AA, Semin EG, Shevtsova ZV, Matua AZ, et al. Preclinical studies of safety, immunogenicity and protective activity of attenuated *Bordetella pertussis* bacteria on the *Macaca mulatta* model. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(4):312–23 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-3>
 15. Джидарян АА, Матуа АЗ, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Сinyaшина ЛН, Дьяков ИН и др. Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖБК интраназального применения на экспериментальной модели детёнышей обезьян вида павиан гамадрил. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(2):203–14. Djidaryan AA, Matua AZ, Medkova AYU, Semin EG, Sinyashina LN, Dyakov IN et al. Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine Gam-LVP in the experimental infant hamadryas baboon model. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2022;99(2):203–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>
 16. Нестерова ЮВ, Медкова АЮ, Бабаченко ИВ, Семин ЕГ, Калисникова ЕЛ, Сinyaшина ЛН и др. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. *Журнал инфектологии*. 2019;11(1):17–24. Nesterova YUV, Medkova AYU, Babachenko IV, Semin EG, Kalisnikova EL, Sinyashina LN et al. Clinical-diagnostic value of *Bordetella pertussis* genetic markers in contact persons in familial foci. *Journal Infectology*. 2019;11(1):17–24 (In Russ.). <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24>
 17. Lin A, Apostolovic D, Jahnmatz M, Liang F, Ols S, Tecleab T, et al. Live attenuated pertussis vaccine BPZE1 induces a broad antibody response in humans. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2332–46. <https://doi.org/10.1172/JCI135020>
 18. Loch C, Papin JF, Lecher S, Debie AS, Thalen M, Solovay K, et al. Live attenuated *Bordetella pertussis* vaccine BPZE1 protects baboons against *Bordetella pertussis* disease and infection. *J Infect Dis*. 2017;216(1):117–24. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix254>
 19. Каратаев ГИ, Сinyaшина ЛН, Семин ЕГ, Медкова АЮ, Лиджиева АА, Куликов СВ и др. Способы оценки защитной активности и иммуногенности коклюшных вакцин у человека, применение живой коклюшной рекомбинантной вакцины ГамЖБК. Патент Российской Федерации № 2799018; 2023. Karataev GI, Sinyashina LN, Semin EG, Medkova AYU, Lidzhieva AA, Kulikov SV, et al. Methods for assessing the protective activity and immunogenicity of pertussis vaccines in humans, the use of live pertussis recombinant vaccine GamLPV. Patent of the Russian Federation No. 2799018; 2023 (In Russ.). EDN: VEYJPZ

Дополнительная информация. Онлайн приложение к статье. Приложение № 1. Используемые материалы и методы. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex1>
Приложение №2. Результаты исследования динамики цитокинов. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex2>

Additional information. Online supplements: Supplement 1. Materials & Methods. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex1>
Supplement 2. Results of the monitoring of cytokine dynamics. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-610-annex2>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.А. Лиджиева** — проведение эксперимента, отработка протоколов обследования добровольцев, координация данных из исследовательского центра; **А.Ю. Медкова** — медицинская экспертиза, написание, редактирование и оформление текста рукописи; **С.В. Куликов** — проведение ПЦР в реальном времени, анализ литературных данных; **Л.Н. Сияяшина** — критические замечания при прочтении рукописи, формирование концепции исследования, идеи методов введения препарата, редактирование текста рукописи; **Р.А. Сюндюкова** — обсуждение полученных результатов; **И.Н. Чернышова**, **М.В. Гаврилова**, **К.К. Бушкова** и **Н.А. Снегирева** — подготовка образцов крови и смывов из рото- и носоглотки, выделение и культивирование клеток крови, постановка ИФА для оценки уровня антител в сыворотке крови и смывах, уровня цитокинов в супернатантах, постановка реакции агглютинации; **И.Н. Дьяков** — формирование концепции, планирование исследования, анализ литературных данных, обработка экспериментальных данных, написание текста рукописи; **Г.И. Каратаев** — формирование концепции, планирование исследования, редактирование рукописи, окончательная формулировка выводов и утверждение версии рукописи для публикации. **Соответствие принципам этики.** Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами медицинских исследований с участием человека, изложенными в Хельсинкской декларации (2013 г.). Клиническое исследование лекарственного препарата проводилось на основании разрешения № 382 от 2 августа 2018 г., выданного Министерством здравоохранения Российской Федерации по результатам экспертизы документов и этической экспертизы, предусмотренных статьей 39 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и продления разрешения (№ 410322720-1/Др от 05.06.2019). Все добровольцы, участвовавшие в исследовании, подписали форму добровольного информированного согласия. **Благодарности.** А.П. Марков (1950–2024), канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики бактерий отдела ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России принимал активное участие в планировании исследования, анализе литературных данных и подведении итогов работы.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.A. Lidzhieva** conducted experiments, processed volunteer screening protocols, and coordinated data collection from the trial site. **A.Yu. Medkova** conducted medical examinations and drafted, edited, and designed the manuscript. **S.V. Kulikov** conducted real-time PCR and analysed published data. **L.N. Sinyashina** provided critical remarks on the manuscript, conceptualised the study, devised vaccine administration methods, and edited the manuscript. **R.A. Sioundiukova** discussed the results obtained. **I.N. Chernyshova**, **M.V. Gavrilova**, **K.K. Bushkova** and **N.A. Snegireva** prepared blood samples and oropharyngeal and nasopharyngeal swabs, isolated and cultivated blood cells, conducted ELISA to assess the levels of antibodies in serum samples and swabs and the levels of cytokines in supernatants, and conducted agglutination tests. **I.N. Dyakov** conceptualised and designed the study, analysed published data, processed the experimental data, and drafted the manuscript. **G.I. Karataev** conceptualised the study, designed the study, edited the manuscript, formulated the conclusions, and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. The study was conducted in full compliance with the ethical principles for medical research involving human subjects described in the Declaration of Helsinki (2013). The study was approved by the Ministry of Health of the Russian Federation (Approval No. 382 of 2 August 2018) on the basis of the documentation and ethics reviews provided for under Article 39 of Russian Federal Law No. 61-FZ 'On the Circulation of Medicines' of 12 April 2010 and the Extension of the Approval (No. 410322720-1/Dr of 5 June 2019). All the volunteers who participated in the clinical trial had signed an informed consent form.

Acknowledgments. The authors would like to express gratitude to A.P. Markov (1950–2024), Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher of the Laboratory of Bacterial Genetics at the National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya. A.P. Markov was actively involved in planning the study, analysing published data, and summarising the results.

Об авторах / Authors

Лиджиева Алевтина Анатольевна / Alevtina A. Lidzhieva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1537-6444>

Медкова Алиса Юрьевна, канд. мед. наук / Alisa Yu. Medkova, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>

Куликов Сергей Вячеславович / Sergey V. Kulikov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7478-3624>

Сияяшина Людмила Николаевна, д-р мед. наук / Lyudmila N. Sinyashina, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

Сюндюкова Резида Анваровна, канд. биол. наук / Rezida A. Sioundiukova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5600-1967>

Чернышова Ирина Николаевна, канд. мед. наук / Irina N. Chernyshova, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>

Гаврилова Марина Викторовна, канд. биол. наук / Marina V. Gavrilova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6936-2486>

Бушкова Кристина Константиновна / Kristina K. Bushkova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4757-0751>

Снегирева Надежда Анатольевна / Nadezda A. Snegireva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5399-3224>

Дьяков Илья Николаевич, канд. биол. наук / Ilya N. Dyakov, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>

Каратаев Геннадий Иванович, док. биол. наук / Gennadiy I. Karataev, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>

Поступила 04.07.2024

После доработки 02.11.2024

Принята к публикации 27.01.2025

Online first 31.01.2025

Received 4 July 2024

Revised 2 November 2024

Accepted 27 January 2025

Online first 31 January 2025



Опыт применения вакцин для профилактики ветряной оспы в мире и перспективы для Российской Федерации

А.С. Коровкин ✉, Д.В. Горенков, А.А. Солдатов, В.А. Меркулов

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

✉ Коровкин Алексей Сергеевич; a.s.korovkin@gmail.com

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Ветряная оспа является высоко контагиозным вирусным заболеванием, поражающим преимущественно детей дошкольного возраста. В мире зарегистрированы несколько вакцин для профилактики ветряной оспы, которые обладают различными профилями безопасности и эффективности, при этом охват вакцинацией остается недостаточным. Есть нерешенные вопросы, связанные с долгосрочной эффективностью вакцин и возникновением нежелательных эффектов, что подчеркивает необходимость продолжения мониторинга и развития программы иммунизации.

ЦЕЛЬ. Обобщение зарубежного и российского опыта изучения эффективности и безопасности вакцин против ветряной оспы для совершенствования и оптимизации подходов в иммунизации.

ОБСУЖДЕНИЕ. Проанализированы сведения о разработке вакцин для профилактики ветряной оспы, опыт клинических исследований и изучения параметров эффективности и безопасности в условиях контролируемых клинических исследований и реальной клинической практики. Большая часть зарегистрированных в мире вакцин производится с использованием оригинального штамма Ока вируса ветряной оспы (*Varicella zoster*), при этом южнокорейским предприятием выпускается вакцина на основе собственного штамма MAV/06. Вакцинные препараты производства Бельгии, США, КНР и Республики Корея для профилактики ветряной оспы продемонстрировали сопоставимые показатели иммуногенности, профилактической эффективности и безопасности. Поскольку региональные программы иммунизации позволили существенно снизить заболеваемость и осложнения, в обозримом будущем предполагается включение вакцинации против ветряной оспы в национальный календарь профилактических прививок Российской Федерации. В целях реализации национальной программы иммунизации могут применяться вакцины, изученные надлежащим образом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Анализ российского и зарубежного опыта изучения эффективности и безопасности вакцин против ветряной оспы продемонстрировал, что живые аттенуированные вакцины характеризуются сопоставимыми показателями эффективности и иммуногенности, благоприятным профилем безопасности и могут быть использованы для развития национальной программы иммунизации в Российской Федерации.

Ключевые слова: вакцины; ветряная оспа; вирус ветряной оспы; клинические исследования; эпидемиологическая эффективность; *Varicella zoster*; безопасность; иммуногенность; программа иммунизации

Для цитирования: Коровкин А.С., Горенков Д.В., Солдатов А.А., Меркулов В.А. Опыт применения вакцин для профилактики ветряной оспы в мире и перспективы для Российской Федерации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2025;25(1):37–46. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-37-46>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

Потенциальный конфликт интересов. Меркулов В.А. — главный редактор журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» с 2021 г., Коровкин А.С. — член редколлегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» с 2024 г. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Global experience with chickenpox vaccines and future prospects for the Russian Federation

Alexey S. Korovkin , Dmitry V. Gorenkov, Aleksandr A. Soldatov, Vadim A. Merkulov

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

 Alexey S. Korovkin; a.s.korovkin@gmail.com

ABSTRACT

INTRODUCTION. Chickenpox is a highly contagious viral disease that primarily affects preschool children. A number of chickenpox vaccines are licensed worldwide, but there are still gaps in vaccination coverage. Chickenpox vaccines may differ in efficacy, and certain issues with their long-term effectiveness remain unresolved. Chickenpox vaccines may have different safety profiles, and there are lingering concerns about adverse effects. These considerations highlight the need for further safety monitoring and the development of vaccination programmes.

AIM. This study aimed to summarise Russian and international experience in studying the safety, efficacy, and effectiveness of chickenpox vaccines to improve and optimise immunisation strategies.

DISCUSSION. This paper presents an analysis of information on the development of chickenpox vaccines and the assessment of their safety, efficacy, and effectiveness based on clinical trial results and real-world evidence. Most licensed vaccines are produced from the original Oka strain of chickenpox virus (*Varicella zoster*), while a South Korean company produces a vaccine using its own MAV/06 strain. Chickenpox vaccines manufactured in Belgium, the USA, China, and South Korea have demonstrated comparable safety, immunogenicity, efficacy, and effectiveness. Regional immunisation programmes have significantly reduced chickenpox incidence and complications, and the inclusion of chickenpox vaccination in the national immunisation schedule of the Russian Federation is anticipated in the foreseeable future. The national immunisation programme may include vaccines that have been properly studied.

CONCLUSIONS. According to the analysis of national and international experience, live attenuated vaccines have comparable efficacy, effectiveness, and immunogenicity and are safe for human use. Consequently, chickenpox vaccines can be used in the development of the national immunisation programme in the Russian Federation.

Keywords: vaccines; chickenpox; varicella-zoster virus; clinical trials; effectiveness; *Varicella zoster*; safety; immunogenicity; immunisation programme

For citation: Korovkin A.S., Gorenkov D.V., Soldatov A.A., Merkulov V.A. Global experience with chickenpox vaccines and future prospects for the Russian Federation. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):37–46. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-37-46>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022200103-5).

Disclosure. V.A. Merkulov and A.S. Korovkin have been the Editor-in-Chief and a member of the Editorial Board of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment* since 2021 and 2024, respectively. The other authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Ветряная оспа — высококонтагиозное антропонозное вирусное заболевание, представляющее серьезную проблему для общественного здравоохранения. Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в мире ежегодно регистрируется до 4200 случаев смерти по причине осложненного течения ветряной оспы, а до 4,2 млн случаев тяжелых форм ветряной оспы ежегодно приводит к госпитализации, что создает существенное бремя для систем здравоохранения всех стран мира¹. Согласно российским эпидемиологическим данным наиболее высокий уровень заболеваемости ветряной оспой регистрируется среди детей в возрасте 3–6 лет, реже у детей 1–2 и 7–14 лет, однако отмечаются эпизоды заболевания и у детей младше 1 года. Показатели заболеваемости детского населения ветряной оспой в сотни раз превышают уровни заболеваемости взрослых².

Утвержденная Распоряжением Правительства Российской Федерации Стратегия развития иммунопрофилактики инфекционных болезней до 2035 г.³ предполагала включение вакцинации против ветряной оспы в национальный календарь профилактических прививок в 2023 г. Однако в соответствии с более поздними изменениями⁴ этот срок продлен до 2027 г. вследствие отсутствия российской вакцины.

Согласно позиции российских экспертов в области иммунопрофилактики вакцинацию детей против ветряной оспы в нашей стране следует проводить двукратно — в возрасте 12 мес. и 6 лет, по аналогии с вакцинацией против кори, краснухи и эпидемического паротита [1].

Цель работы — обобщение зарубежного и российского опыта изучения эффективности и безопасности вакцин против ветряной оспы для совершенствования и оптимизации подходов в иммунизации.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

История разработки вакцин для профилактики ветряной оспы

Вакцина для профилактики ветряной оспы была впервые разработана в 1971 г. специалистами института Бикен (Исследовательский институт микробных заболеваний при Университете Осака, Япония) под руководством вирусолога

М. Такахаси. Вакцина представляла собой препарат на основе аттенуированного штамма вируса *Varicella zoster*, получившего название Ока — по имени младшего сына вирусолога, который в возрасте трех лет заболел ветряной оспой с типичными кожными высыпаниями, но без системных проявлений заболевания [2]. Жидкое содержимое кожных везикул пассировали в первичной культуре клеток HEL (легкое эмбриона человека). Вирус, полученный от зараженного ветряной оспой ребенка, прошел 11 пассажей в культуре клеток HEL и 12 пассажей в культуре клеток эмбриональных фибробластов морской свинки (GPEF) [3]. В последующем при сравнении нуклеотидных последовательностей вируса штамма Ока и вируса *Varicella zoster* дикого типа были выявлены мутации в гене *ORF62*, которые предположительно приобретены при пассировании вируса через клеточную линию GPEF и могут обуславливать аттенуацию штамма [4]. Позже в Корее был получен другой вакцинный штамм — MAV/06, выделенный от зараженного ветряной оспой ребенка и прошедший серию пассажей в клеточных линиях HEL, GPEF и MRC-5 [5]. В процессе промышленного производства вакцин вакцинные штаммы выращиваются в культурах диплоидных перевиваемых клеточных линий человека MRC-5.

Современные вакцины для профилактики ветряной оспы

В настоящее время преквалификацию ВОЗ получили 4 вакцины для профилактики ветряной оспы (табл. 1).

Одной из особенностей препаратов, произведенных на основе вакцинного штамма Ока, является достаточно большое число накопленных мутаций. Это следовало из анализа данных полногеномного секвенирования вакцинных штаммов, представленных в препаратах Варилрикс®, Varivax®, оригинальной вакцины Biken и вакцины, произведенной биофармацевтическим предприятием Changchun BCNT Biotechnology [6]. Хотя все перечисленные вакцины индуцируют образование специфических антител к гликопротеину Е вируса *Varicella zoster* и обладают выраженной иммуногенной активностью, остается открытым вопрос о дальнейшем сохранении иммуногенных и протективных свойств вакцин,

¹ Varicella and herpes zoster vaccines: WHO position paper. Wkly Epidemiol Rec. 2014;89(25):265–87.

² О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2024.

³ Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29.03.2021 № 774-р «Об утверждении Плана мероприятий по реализации Стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней до 2035 года».

⁴ Распоряжение Правительства Российской Федерации от 15.02.2023 № 343-р «О внесении изменений в План мероприятий по реализации Стратегии развития иммунопрофилактики инфекционных болезней до 2035 год, утв. распоряжением Правительства Российской Федерации от 29.03.2021 № 774-р».

Таблица 1. Вакцины для профилактики ветряной оспы, преквалифицированные ВОЗ⁵

Table 1. WHO-prequalified vaccines for the prevention of chickenpox

Вакцина <i>Vaccine</i>	Производитель <i>Manufacturer</i>	Штамм <i>Strain</i>	Дата преквалификации <i>Prequalification date</i>
Varivax®	Merck Sharp & Dohme LLC (США / <i>USA</i>)	Oka	9 февраля 2018 г. <i>9 February 2018</i>
SKYVaricella®	SK Bioscience Co., Ltd (Республика Корея / <i>South Korea</i>)	Oka/SK	9 декабря 2019 г. <i>9 December 2019</i>
Вакцина против ветряной оспы, живая <i>Varicella vaccine, live</i>	Sinovac (Dalian) Vaccine Technology Co., Ltd (КНР / <i>China</i>)	Oka	3 ноября 2022 г. <i>3 November 2022</i>
BARYCELA®	GC Biopharma Corp. (Республика Корея / <i>South Korea</i>)	MAV/06	14 февраля 2023 г. <i>14 February 2023</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

что диктует необходимость оценки генетической стабильности производственных штаммов.

Так как вакцинация против ветряной оспы совпадает, как правило, по времени с вакцинацией против кори, краснухи и эпидемического паротита, были разработаны комбинированные вакцины против перечисленных возбудителей. Одна из таких вакцин, производимая в Бельгии, зарегистрирована в России. Американский препарат в России не зарегистрирован. Обе вакцины не проходили процедуру преквалификации ВОЗ.

Результаты клинических исследований вакцин для профилактики ветряной оспы

Один из первых вакцинных препаратов американского производства — Varivax® прошел масштабные клинические исследования (КИ) с участием 3303 здоровых детей и подростков в возрасте от 12 мес. до 17 лет [7]. В исследовании изучали 5 промышленных серий вакцины, содержащих живой штамм Ока вируса *Varicella zoster* в концентрации от 1000 до 1625 бляшкообразующих единиц (БОЕ) в дозе. В целом вакцинация переносилась удовлетворительно. У 2381 из 2475 вакцинированных детей (96%) сформировался гуморальный иммунный ответ по данным иммуноферментного анализа (ИФА) на основе определения гликопротеина Е вируса *Varicella zoster*; у 569/576 (99%) участников исследования напряженность гуморального иммунитета сохранялась в течение одного года после вакцинации. Частота развития ветряной оспы после бытового контакта у вакцинированных составила приблизительно 12%, тогда как по историческим данным после бытового контакта доля заболевших среди непривитых людей составляет 87%. Практически у всех

вакцинированных с развитием «ветряной оспы прорыва» клиническое течение заболевания было существенно модифицировано, а само заболевание переносилось легче, чем у непривитых людей [7]. К настоящему времени миллионы людей по всему миру были привиты вакциной Varivax®, а в 2018 г. препарат прошел процедуру преквалификации ВОЗ.

Корейская вакцина SKYVaricella®, производимая компанией SK Bioscience, прошла преквалификацию ВОЗ в 2019 г. Вакцина представляет собой препарат на основе живого аттенуированного штамма Ока/SK — прямого потомственного штамма от Ока. В производственных условиях вакцинный штамм выращивают в культуре клеток MRC-5. Концентрация штамма в готовой лекарственной форме препарата составляет не ниже 2400 БОЕ на дозу [8]. Данная вакцина прошла ряд КИ, в которых приняли участие 455 человек, из них 365 — дети в возрасте от 12 мес. до 12 лет (целевая возрастная группа). КИ проводились с 2012 по 2017 г. в Корее, Мексике и на Филиппинах. Вакцинный препарат Varivax® использовали в качестве препарата сравнения. По эквивалентной иммуногенности SKYVaricella® в сравнении с препаратом Varivax®, определенной при помощи иммунофлуоресцентного теста на основе мембранного антигена (fluorescent antibody to membrane antigen, FAMA), сделан вывод, что и ожидаемая протективная эффективность корейской вакцины будет эквивалентна референтному препарату Varivax®⁶.

Анализ результатов КИ фаз II и III, в которые включили детей в возрасте от 12 мес. до 12 лет, продемонстрировал, что одна доза вакцины SKYVaricella®, содержащая 12933 БОЕ в объеме 0,5 мл, является иммуногенной⁷. Уровни

⁵ WHO prequalification of medical products. Prequalified vaccines. WHO; 2024. <https://extranet.who.int/prequal/vaccines/prequalified-vaccines>

⁶ Public assessment summary report. SKYVaricella Inj. Varicella Virus Vaccine (live) [Oka/SK]. SK bioscience Co., Ltd., Republic of Korea. WHO; 2019.

⁷ Там же.

сероконверсии, которые определяли в тесте FAMA и принимали в качестве первичной конечной точки иммуногенности, достигнуты почти у всех участников (99%). В КИ фазы II не выявили статистически значимой разницы уровней поствакцинальных антител после вакцинации одной из трех формуляций вакцины: с дозировками 4867, 12933 и 19733 БОЕ. В КИ фазы III средний уровень дозы выбирали для оценки не меньшей (эквивалентной) эффективности по сравнению с Varivax®. В качестве первичной конечной точки для определения не меньшей эффективности также установили уровень сероконверсии по данным теста FAMA. Было продемонстрировано, что вакцины SKYVaricella® и Varivax® обладали эквивалентной иммуногенностью. Анализ вторичных конечных точек, связанных с оценкой напряженности гуморального иммунитета по данным FAMA и ИФА, указал на более высокую иммуногенность средней дозировки SKYVaricella®, чем препарат сравнения. Данные, собранные в КИ фаз II и III, в целом указывают на благоприятный профиль безопасности и реактогенности вакцины SKYVaricella®, аналогичный вакцине Varivax®. При анализе пострегистрационного опыта применения SKYVaricella® на 115000 пациентах не выявлены какие-либо проблемы, связанные с безопасностью применения вакцинного препарата⁸.

КИ вакцины на основе штамма MAV/06 были проведены в Корее и Таиланде в 2018 г. с участием 515 детей в возрасте от 12 мес. до 12 лет, которых равномерно распределили в группу № 1 (прививка препаратом на основе штамма MAV/06) или в группу № 2 (прививка вакциной Varivax® американского производства). Уровни сероконверсии и средний геометрический титр (СГТ) антител оценивали в тесте FAMA [9]. В группе № 1 уровень сероконверсии достигал 97,9% (95% ДИ 95,2–99,3) после вакцинации. Нижний предел 95% ДИ (доверительный интервал) для разницы уровней сероконверсии между исследуемыми группами составил минус 4,0%, что выше установленного предела не меньшей эффективности (минус 10%). Кроме того, значение СГТ в группе № 1 увеличилось с 2,0 до 74,2 (95% ДИ 65,0–84,8), а нижние пределы 95% ДИ для соотношений СГТ между исследуемыми группами после вакцинации были на 0,55 выше значения указанного параметра (0,5). Таким образом, показатели сероконверсии и СГТ в группе № 1 не были статистически значимо снижены по сравнению с контролем (группа № 2). Кроме того, группы № 1 и 2 существенно не отличались

по числу участников, у которых регистрировали нежелательные явления (ожидаемые, местные или системные) в течение 43-суточного периода наблюдения и серьезные нежелательные явления в течение 6 мес. после вакцинации. Полученные результаты свидетельствуют о том, что вакцина на основе штамма MAV/06 иммунологически не уступает зарегистрированной вакцине Varivax®, а их профили безопасности сопоставимы и признаны благоприятными [9].

В 2022 г. преквалификацию ВОЗ прошла живая аттенуированная вакцина против ветряной оспы на основе штамма Ока, полученного из коллекции ATCC (American Type Culture Collection, Американская коллекция типовых культур). Вакцина производится в КНР компанией Sinovac. В стране происхождения данная вакцина одобрена к медицинскому применению в 2019 г. после проведения ряда КИ. С августа по сентябрь 2016 г. в рамках рандомизированного плацебо-контролируемого исследования фазы III дети в возрасте от 12 мес. до 12 лет получали исследуемый вакцинный препарат (группа привитых, 2997 человек) либо плацебо (3000 человек) [10]. В качестве первичной конечной точки при оценке эффективности вакцинации служил показатель частоты развития лабораторно подтвержденной ветряной оспы. Вторичной конечной точкой являлась клиническая диагностика на основе симптомокомплекса ветряной оспы, в первую очередь кожных высыпаний. Иммуногенность вакцины оценивали методом FAMA для выявления поствакцинальных антител через 30 сут после вакцинации. В качестве порогового значения серопозитивности был принят титр антител 1:4 и выше. Эффективность вакцины против ветряной оспы была определена на уровне 87,1% (95% ДИ 69,7–94,5) (6 и 46 случаев в группах привитых и плацебо соответственно), эффективность в отношении «ветряной оспы прорыва» — 89,2% (95% ДИ 72,9–95,7) (5 и 46 случаев в группах привитых и плацебо соответственно). Достоверных различий частоты развития ожидаемых нежелательных явлений между двумя группами не выявлено. Серьезные нежелательные явления зарегистрированы у 0,8% и 0,7% детей в группах привитых и плацебо. В подгруппе оценки иммуногенности уровень сероконверсии составил 97,1% (339/349) в группе привитых. Титр антител к вирусу ветряной оспы на уровне 1:8 и выше был определен как защитный [10].

В 1998 г. в КНР биофармацевтическое предприятие Changchun BCNT Biotechnology (также известно как Baikе) зарегистрировало живую

⁸ Public assessment summary report. SKYVaricella Inj. Varicella Virus Vaccine (live) [Oka/SK]. SK bioscience Co., Ltd., Republic of Korea. WHO; 2019.

аттенуированную вакцину на основе штамма Ока. Промышленное производство осуществляется, по аналогии с другими вакцинами против ветряной оспы, методом выращивания вакцинного штамма в культуре клеток МRC-5. Вакцина предназначена для вакцинации детей в возрасте 12 мес. и старше. По результатам проведенных в КНР КИ был подтвержден благоприятный профиль безопасности [11], а в условиях рутинной вакцинации детей эффективность данной вакцины составила 79,5% (95% ДИ 58,1–90,0) в профилактике ветряной оспы при оценке в общей популяции [12].

В провинции Шандунь (КНР) провели парное исследование «случай-контроль» среди учеников начальных школ, в котором проанализировали сведения о заболевании ветряной оспой со случайным подбором пары из группы здоровых детей и были сопоставлены сведения о проведенной вакцинации против ветряной оспы или ее отсутствии. Общая эффективность вакцинации составила 83,4% (95% ДИ 71,4–90,3), при этом охват вакцинацией детей в провинции составил 41% [13].

В 1995–1997 гг. в США завершилось КИ комбинированной вакцины против кори, краснухи, эпидемического паротита и ветряной оспы (КПКВ), разработанной американским производителем. В КИ были включены 294 ребенка в возрасте от 12 до 18 мес. [14]. Они были случайным образом распределены в группу тех, кто получил КПКВ одновременно с конъюгированной вакциной против гемофильной инфекции типа b, либо в группу тех, кто получил вакцину против кори, краснухи и паротита комбинированную (КПК) одновременно с конъюгированной вакциной против гемофильной инфекции типа b с последующей ревакцинацией моновакциной против ветряной оспы через 6 мес. По результатам КИ установлено отсутствие серьезных нежелательных явлений, связанных с вакцинацией в обеих группах, и статистически значимых различий показателей сероконверсии между группами через 6 нед. и один год. Показатели сероконверсии через 6 нед., устойчивость иммунного ответа спустя один год и частота местных и системных реакций были сопоставимы между исследуемыми группами [14].

Международное КИ комбинированной вакцины КПКВ, разработанной бельгийским производителем, проводили с участием 5803 детей в возрасте от 12 до 24 мес. [15]. Участники исследования из 10 стран в период с сентября 2005 по май 2006 г. были равномерно распределены в 3 группы в соотношении 3:3:1 и были двукратно привиты исследуемой вакциной КПКВ,

КПК и вакциной против ветряной оспы (КПК+В), и вакциной КПК соответственно. Первичной конечной точкой исследования служила оценка заболеваемости ветряной оспой спустя 42 сут и позже после введения второй дозы вакцины. Эффективность двукратной вакцинации КПКВ в предотвращении развития всех случаев ветряной оспы составила 94,9% (95% ДИ 92,4–96,6). Наиболее частое (до 25%) нежелательное явление после вакцинации КПКВ проявлялось в покраснении места введения препарата. В течение 15 сут после введения первой дозы 57,4% (95% ДИ 53,9–60,9) участников в группе КПКВ сообщили о повышении температуры тела до 38 °C и выше по сравнению с 44,5% (95% ДИ 41,0–48,1) в группе КПК+В и 39,8% (95% ДИ 33,8–46,1) в группе КПК. Зарегистрированы 8 эпизодов развития серьезных нежелательных явлений, связанных с вакцинацией (3 – в группе КПКВ, 4 – в группе КПК+В, 1 – в группе КПК), которые самостоятельно разрешились в течение периода исследования [15].

В последние годы на фоне успешного применения вакцины на основе рекомбинантного гликопротеина Е для профилактики вторичного инфицирования вирусом *Varicella zoster* с развитием опоясывающего лишая (синдром *Herpes zoster*) началась разработка аналогичных по своей конструкции препаратов. Исследователи из Университета Джиллин (КНР) клонировали ген, кодирующий гликопротеин Е вируса *Varicella zoster*, в клеточную линию 293Т для получения клеточной линии-продуцента. При иммунизации мышей полученным рекомбинантным белком был продемонстрирован выраженный иммунный ответ [16]. Сотрудники Института медицинской биологии (КНР) разработали мРНК-технология получения вакцины на основе липидных наночастиц, содержащих мРНК, которая кодирует гликопротеин Е вируса *Varicella zoster*. В ходе экспериментальных работ они продемонстрировали, что вариант кандидатной химерной мРНК-вакцины на основе гена, кодирующего гликопротеин Е, и нетранслируемых последовательностей стимулирует выраженный гуморальный иммунный ответ при иммунизации мышей, не уступающий такому при иммунизации мышей рекомбинантной коммерческой вакциной [17].

Опыт применения вакцин для профилактики ветряной оспы в Российской Федерации

В Российской Федерации в настоящее время зарегистрирована единственная вакцина против ветряной оспы бельгийского производства

на основе штамма Ока. Непродолжительное время в России применялась американская вакцина, однако на российский рынок она больше не поставляется. К настоящему времени уже накоплен российский опыт применения вакцин против ветряной оспы, позволяющий оценить их эффективность и безопасность в условиях рутинного применения по индивидуальным медицинским назначениям либо в условиях региональных программ вакцинации.

На основании отчетных форм № 2 Федерального государственного статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2001–2019 гг. на примере Алтайского края (г. Барнаул) со статистической обработкой методом имитационного моделирования спрогнозировано снижение заболеваемости в 2–2,5 раза через 5 лет при реализации программы вакцинации против ветряной оспы [18].

О.Л. Ксенофоновой с соавт. была изучена эффективность вакцинопрофилактики ветряной оспы с 2008 по 2010 гг. в г. Екатеринбурге [19]. Всего в 2009 г. вакциной бельгийского производства были привиты 4374 человека. В результате проведенной прививочной кампании эффективность постэкспозиционной вакцинопрофилактики ветряной оспы в первые 72 ч после контакта с больным составляла 95% при благоприятном профиле безопасности вакцины. Во время плановой вакцинопрофилактики ветряной оспы в детских дошкольных учреждениях были привиты 5340 детей в возрасте от 3 до 6 лет. В качестве контроля использовали данные о заболеваемости среди 3199 непривитых детей соответствующих возрастов. Эффективность вакцинации в отношении предотвращения развития инфекции, вызванной вирусом *Varicella zoster*, составила 98%.

Изучение эффективности постэкспозиционной вакцинопрофилактики ветряной оспы было проведено в июле 2011 г. в г. Красноярске. Вакциной японского производства были привиты 62 контактных ребенка в возрасте от 8 до 16 лет из 125 детей, находившихся под наблюдением. В группе привитых заболевание развилось у двоих детей в течение 10-суточного периода наблюдения. В результате постэкспозиционной вакцинопрофилактики в течение 15 сут от момента регистрации первого случая заболевания удалось достигнуть локализации очага инфекции. Кроме того, был подтвержден благоприятный профиль безопасности вакцины для профилактики ветряной оспы [20].

Эффективность постэкспозиционной вакцинопрофилактики ветряной оспы была также изучена в Российской Федерации в организованных

воинских коллективах. В очаге ветряной оспы 200 военнослужащих нового пополнения по призыву были однократно вакцинированы против ветряной оспы. В группу сравнения включили 97 невакцинированных военнослужащих по призыву нового пополнения. В группе вакцинированных солдат зарегистрировали лишь 2 случая заболевания (1%), тогда как в группе сравнения – 7 случаев (7,2%). Эпидемиологическая эффективность постэкспозиционной вакцинопрофилактики ветряной оспы составила 86%. У 10% привитых в месте введения препарата отмечали местные реакции в виде гиперемии (до 1,5 см) и отека; у 1,7% – отмечали общую реакцию в виде повышения температуры до 37,8 °С. Серьезных нежелательных явлений у привитых не выявлено [21].

В.Г. Акимкин с соавт. продемонстрировали [22], что однократная вакцинация контактных лиц в эпидемических очагах (организованные воинские коллективы) приводила к снижению числа заболеваний ветряной оспой среди привитых в 2,5 раза. Применение вакцины в день прибытия молодого пополнения в часть позволило полностью предотвратить возникновение случаев заболевания ветряной оспой в воинском коллективе. Эпидемиологическая эффективность экстренной специфической профилактики, проводимой на 4 сут после регистрации первого случая ветряной оспы, составляет 60,7%, а плановой профилактики – 100% [22].

Поданным Л.В. Крамаря с соавт. [23], 14 000 детей (5400 – в г. Волгограде и 8600 – в Волгоградской области) в возрасте от 1 до 6 лет были привиты вакциной японского производства в 2012 г. Зарегистрированы единичные случаи нежелательных явлений после вакцинации в виде кожных высыпаний и повышения температуры до 38 °С, при этом нежелательные явления разрешались самостоятельно и не требовали лечения [23].

М.А. Барышев с соавт. [24] провели описательное эпидемиологическое исследование, выполненное на базе Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова. Коллектив авторов ретроспективно проанализировал сведения формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2007–2017 гг. и Государственных докладов «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за 2016 и 2017 гг. Установлено, что заболеваемость ветряной оспой в 2017 г. в регионах Российской Федерации, включивших вакцинацию против ветряной оспы в региональные календари профилактических прививок, была на 75% ниже среднего уровня заболеваемости по стране [24].

В ряде отечественных работ подтверждена выраженная экономическая эффективность мероприятий по вакцинации против ветряной оспы, что обосновывает необходимость включения вакцинации против ветряной оспы в национальный календарь профилактических прививок [25–29].

В Российской Федерации также ведутся работы по созданию вакцин против ветряной оспы. Специалисты ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» получили штамм-продуцент *Escherichia coli* для наработки рекомбинантного гликопротеина Е вируса ветряной оспы. Установлена реактивность полученного рекомбинантного антигена с иммуноглобулином G кроликов, иммунизированных вакциной на основе штамма Ока. При помощи ИФА была продемонстрирована перекрестная реактивность полученного антигена с образцами сыворотки крови, полученных от пациентов с опоясывающим лишаем [30].

Холодоадаптированный штамм «vZelVax» вируса *Varicella zoster*, депонированный в Государственной коллекции вирусов ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 03.03.2020 № 2936, предназначен для получения живой культуральной вакцины для профилактики и лечения опоясывающего герпеса у взрослого населения. В 2013 г. в Москве клинический изолят вируса был выделен из корочки от везикул 63-летнего пациента в период реактивации опоясывающего лишая. В 2016 г. клиническому изоляту IpZel после завершения этапов аттенуации при низких температурах присвоили название «vZelVax». Штамм «vZelVax» прошел 12 пассажей в культуре диплоидных клеток ЛЭЧ-3 при низких температурах культивирования (30 °C), 6 пассажей в первичной культуре клеток эмбрионов морских свинок и еще 2 пассажа в клеточной культуре диплоидных клеток ЛЭЧ-3 [31].

Аттенуированный штамм «vFiraVax», депонированный в Государственной коллекции вирусов Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России 12.12.2018 № 2891, предназначен для получения живой культуральной вакцины в целях профилактики ветряной оспы и ассоциированных вакцин, содержащих компонент вируса ветряной оспы. В 2014 г. клинический изолят

вируса *Varicella zoster* был выделен из корочки от пустилы здоровой 6-летней девочки, заболевшей ветряной оспой. Клиническому изоляту после завершения этапов аттенуации при низких температурах присвоено название «vFiraVax». Штамм «vFiraVax» вируса *Varicella zoster* (Master seed) прошел 12 пассажей в культуре диплоидных клеток ЛЭЧ-3 при низких температурах культивирования (30 °C), 6 пассажей в первичной культуре клеток эмбрионов морской свинки и 2 пассажа в клеточной культуре диплоидных клеток ЛЭЧ-3 [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для реализации программы национальной иммунизации против ветряной оспы в Российской Федерации могут применяться как уже зарегистрированные вакцины, так и находящиеся на различных стадиях разработки после их государственной регистрации по итогам реализации цикла доклинических и клинических исследований. В целом существующие в мире вакцины против ветряной оспы продемонстрировали высокую профилактическую эффективность, в том числе и при долгосрочных наблюдениях, и благоприятный профиль безопасности. Полученные результаты исследований эффективности и безопасности вакцин ветряной оспы различных производителей можно признать сопоставимыми.

Применяемые в настоящее время вакцины производятся с использованием оригинального живого аттенуированного штамма Ока и сходного по свойствам и методу получения живого аттенуированного штамма MAV/06. В Российской Федерации эффективность вакцин на основе штамма Ока была продемонстрирована в ряде наблюдательных исследований. Проведенные эпидемиологические и фармакоэкономические исследования обосновывают необходимость внедрения вакцинации против ветряной оспы в национальный календарь профилактических прививок. В Российской Федерации был получен собственный штамм «vFiraVax», обладающий вакцинными свойствами, однако вакцина-кандидат на его основе должна быть надлежащим образом изучена в ходе рационально спланированных и проведенных доклинических и клинических исследований.

Литература/References

1. Вишнева ЕА, Костинов МП, Мазанкова ЛН, Малинникова ЕЮ, Намазова-Баранова ЛС, Плакида АВ и др. Резолюция Форума экспертов Российской Федерации «Ветряная оспа: серьезная инфекционная угроза для РФ, которая может быть предотвращена

вакцинацией» 7 декабря 2019 г. *Вопросы современной педиатрии*. 2019;18(6):491–4. Vishneva EA, Kostinov MP, Mazankova LN, Malinnikova EY, Namazova-Baranova LS, Plakida AV, et al. Resolution of the expert forum of Russian Federation “Chickenpox: Serious infection in Russian

- Federation, which can be prevented due to vaccination" December 7, 2019. *Current Pediatrics*. 2019;18(6):491–4 (In Russ.). EDN: [YWVNKR](#)
2. Takahashi M. 25 years' experience with the Biken Oka strain varicella vaccine: A clinical overview. *Paediatr Drugs*. 2001;3(4):285–92. <https://doi.org/10.2165/00128072-200103040-00005>
 3. Takahashi M. Development of a live varicella vaccine past and future. *Jpn J Infect Dis*. 2000;53(2):47–55. PMID: 10871914
 4. Gomi Y, Imagawa T, Takahashi M, Yamanishi K. Oka varicella vaccine is distinguishable from its parental virus in DNA sequence of open reading frame 62 and its transactivation activity. *J Med Virol*. 2000;61(4):497–503. [https://doi.org/10.1002/1096-9071\(200008\)61:4%3C497::aid-jmv13%3E3.0.co;2-2](https://doi.org/10.1002/1096-9071(200008)61:4%3C497::aid-jmv13%3E3.0.co;2-2)
 5. Hwang KK, Park SY, Kim SJ, Ryu YW, Kim KH. Restriction fragment length polymorphism analysis of varicella-zoster virus isolated in Korea. *J Kor Soc Virol*. 1991;21(2):201–10.
 6. Wu Q, Rivallier P, Xu S, Xu W. Comparison of the whole-genome sequence of an Oka varicella vaccine from China with other Oka vaccine strains reveals sites putatively critical for vaccine efficacy. *J Virol*. 2019;93(9):e02281–18. <https://doi.org/10.1128/jvi.02281-18>
 7. White CJ, Kuter BJ, Hildebrand CS, Isganitis KL, Matthews H, Miller WJ, et al. Varicella vaccine (VARIVAX) in healthy children and adolescents: Results from clinical trials, 1987 to 1989. *Pediatrics*. 1991;87(5):604–10. PMID: 1850506
 8. Choi UY, Kim KH, Cho HK, Kim DH, Ma SH, Choi YY, et al. Immunogenicity and safety of a newly developed live attenuated varicella vaccine in healthy children: A multinational, randomized, double-blinded, active-controlled, phase 3 study. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(9):1416. <https://doi.org/10.3390/vaccines11091416>
 9. Choi UY, Kim KH, Lee J, Eun BW, Kim DH, Ma SH, et al. Immunogenicity and safety profiles of a new MAV/06 strain varicella vaccine in healthy children: A multinational, multicenter, randomized, double-blinded, active-controlled phase III study. *Vaccine*. 2021;39(12):1758–64. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.02.013>
 10. Hao B, Chen Z, Zeng G, Huang L, Luan C, Xie Z, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of live attenuated varicella vaccine in healthy children in China: Double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(8):1026–31. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.12.033>
 11. Lu X, Zhou W, Gu K, Zhu F. Evaluation on safety and immunogenicity of Changsheng frozen-dried live attenuated varicella vaccine. *J Southeast Univ*. 2008;27(3):5.
 12. Fu C, Wang M, Liang J, Xu J, Wang C, Bialek S. The effectiveness of varicella vaccine in China. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(8):690–3. <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e3181d7380e>
 13. Wang Z, Yang H, Li K, Zhang A, Feng Z, Seward JF, et al. Single-dose varicella vaccine effectiveness in school settings in China. *Vaccine*. 2013;31(37):3834–8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.06.075>
 14. Reuman PD, Sawyer MH, Kuter BJ, Matthews H. Safety and immunogenicity of concurrent administration of measles-mumps-rubella-varicella vaccine and PedvaxHIB vaccines in healthy children twelve to eighteen months old. The MMRV Study Group. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(7):662–7. <https://doi.org/10.1097/00006454-199707000-00008>
 15. Prymula R, Bergsaker MR, Esposito S, Gothefors L, Man S, Snegova N, et al. Protection against varicella with two doses of combined measles-mumps-rubella-varicella vaccine versus one dose of monovalent varicella vaccine: A multicentre, observer-blind, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2014;383(9925):1313–24. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61461-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61461-5)
 16. Liu J, Lin J, Cai L, Sun J, Ding X, Wang C, et al. Immunogenicity of Varicella zoster virus DNA vaccines encoding glycoprotein E and immediate early protein 63 in mice. *Viruses*. 2022;14(6):1214. <https://doi.org/10.3390/v14061214>
 17. Wang Y, Cao H, Lin K, Hu J, Luan N, Liu C. Evaluation of the immunological efficacy of an LNP-mRNA vaccine prepared from Varicella zoster virus glycoprotein gE with a double-mutated carboxyl terminus in different untranslated regions in mice. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(9):1475. <https://doi.org/10.3390/vaccines11091475>
 18. Передельская ЕА, Сафьянова ТВ, Козлов ДЮ, Кульшин АВ, Хворова ЛА. Эпидемиологическая и социально-экономическая оценка эффективности программы однократной вакцинации против ветряной оспы детей 6 лет на примере Алтайского края. *Медицина*. 2021;9(4):54–67. Peredelskaya EA, Safyanova TV, Kozlov DYU, Kulshin AV, Khvorova LA. Epidemiological and socio-economic assessment of the effectiveness of a single vaccination program against chickenpox in children aged 6 years on the example of the Altai territory. *Medicine*. 2021;9(4):54–67 (In Russ.). <https://doi.org/10.29234/2308-9113-2021-9-4-66-79>
 19. Ксенофонтова ОЛ, Рожкова ЛВ, Саввинова ТЛ, Харитонов АН. Опыт проведения вакцинопрофилактики ветряной оспы в г. Екатеринбурге. *Педиатрическая фармакология*. 2010;7(4):34–6. Ksenofontova OL, Rozhkova LV, Savvinova TL, Kharitonov AN. Experience of vaccine prevention for Varicella in Yekaterinburg. *Pediatric Pharmacology*. 2010;7(4):34–6 (In Russ.). EDN: [MWIDUJ](#)
 20. Бахарева НВ, Парфенова НП, Эдомская ОВ, Евреимова СВ. Опыт использования постэкспозиционной профилактики ветряной оспы с целью купирования вспышек в организованных детских коллективах г. Красноярск. *Вопросы современной педиатрии*. 2012;11(2):109–11. Bakhareva NV, Parphenova NP, Edomskaia OV, Yevreimova SV. Post-exposure prophylaxis of varicella in order to stop infection outbreaks in Krasnoyarsk children organized groups. *Current Pediatrics*. 2012;11(2):109–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vsp.v11i2.221>
 21. Дубоделов ДВ, Рыбин ВВ, Рихтер ВВ, Ярославцев ВВ, Грицик АА, Казанова АС, Кузин СН. Эффективность превентивной вакцинопрофилактики ветряной оспы в воинских коллективах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015;3(3):78–83. Dubodelov DV, Rybin VV, Rikhter VV, Yaroslavtsev VV, Gritsik AA, Kazanova AS, Lavrov VF, Semenenko TA, Kuzin SN. Effectiveness of preventive vaccine prophylaxis of chicken pox in military collectives. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2015;3(3):78–83 (In Russ.). EDN: [VOBEON](#)
 22. Акимкин ВГ, Якимов ЮМ, Салмина ТА, Волгин АР, Шевцов ВА, Коротченко СИ и др. Иммунологическая и эпидемиологическая эффективность различных схем применения вакцины «Варилрикс» в организованных воинских коллективах. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2012;4(4):4–9. Akimkin VG, Yakimov YuM, Salmina TA, Volgin AR, Shevtsov VA, Korotchenko SI, et al. Immunological and epidemiological efficiencies of different Varilrix vaccine regimens in organized military collective bodies. *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2012;4(4):4–9 (In Russ.). EDN: [PIDQXI](#)
 23. Крамарь ЛВ, Арова АА, Сейкина ЕА, Алюшин АМ. Обоснование и опыт использования вакцины для профилактики ветряной оспы в г. Волгограде. *Вопросы современной педиатрии*. 2012;11(3):79–82. Kramar' LV, Arova AA, Seikina EA, Alyushin AM. Substantiation and experience of the varicella vaccine usage in Volgograd. *Current Pediatrics*. 2012;11(3):79–82 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vsp.v11i3.301>
 24. Барышев МА, Чернявская ОП, Салтыкова ТС. Оценка опыта внедрения вакцинопрофилактики ветряной оспы в региональные календари прививок субъектов Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019;18(6):67–74. Baryshev MA, Chernyavskaya OP,

- Saltykova TS. Experience of the Varicella vaccine introduction into regional vaccination schedule of the Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(6):67–74 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-6-67-74>
25. Райский ДВ, Джумагазиев АА, Джальмухамедова ЭИ, Квятковский ИЕ. Фармакоэкономический анализ эффективности иммунопрофилактики ветряной оспы у детей дома ребенка. *Педиатрическая фармакология*. 2014;11(6):24–9. Raiskii DV, Dzhumagaziev AA, Dzhal'mukhamedova EI, Kvyatkovskii IE. Pharmacoeconomic analysis of chickenpox immune prevention effectiveness in the infant orphanage inmates. *Pediatric Pharmacology*. 2014;11(6):24–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/pf.v11i6.1212>
 26. Зрячкин НИ, Бучкова ТН, Елизарова ТВ, Чеботарева ГИ. Фармакоэкономическое обоснование включения вакцинации против ветряной оспы в региональный календарь профилактических прививок на примере Пензенской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017;22(6):288–94. Zryachkin NI, Buchkova TN, Elizarova TV, Chebotareva GI. Pharmacoeconomic justification for the inclusion of vaccination against varicella in the regional calendar of preventive vaccinations on the example of the Penza region. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2017;22(6):288–94 (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/EID40991>
 27. Рудакова АВ, Харит СМ, Бабаченко ИВ, Коновалова ЛН, Рычкова СВ, Усков АН, Лобзин ЮВ. Эффективность затрат на вакцинацию детей против ветряной оспы в Российской Федерации. *Журнал инфектологии*. 2021;13(3):114–9. Rudakova AV, Kharit SM, Babachenko IV, Konovalova LN, Rychkova SV, Uskov AN, Lobzin YuV. Cost effectiveness analysis of universal varicella vaccination in the Russian Federation. *Journal Infectology*. 2021;13(3):114–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2021-13-3-114-119>
 28. Афонина НМ, Михеева ИВ. Эффективность региональных программ вакцинопрофилактики ветряной оспы. *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение*. 2022;3(42):95–103. Afonina NM, Mikheeva IV. Effectiveness of regional varicella vaccination programmes. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2022;11(3):95–103 (In Russ.). <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2022-11-3-95-103>
 29. Алексеевская ТИ, Софронов ОЮ. К вопросу об экономической эффективности вакцинопрофилактики ветряной оспы. В кн.: Гайдаров ГМ, ред. *Актуальные вопросы общественного здоровья и здравоохранения на уровне субъекта Российской Федерации. Материалы Всероссийской научно-практической конференции*. Т. 1. Иркутск: ИНЦХТ; 2019. С. 67–74. Alekseevskaya TI, Sofronov OYu. On the economic efficiency of varicella vaccination. In: Gaidarov GM, ed. *Current issues of public health and health care at the level of constituent entities of the Russian Federation. Proceedings of the all-Russian scientific and practical conference*. Vol. 1. Irkutsk: INCHT; 2019. P. 67–74 (In Russ.). EDN: [XDSNAV](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-77-85)
 30. Алаторцева ГИ, Сидоров АВ, Нестеренко ЛН, Лухверчик ЛН, Амиантова ИИ, Доценко ВВ и др. Получение рекомбинантного аналога гликопротеина Е вируса Varicella zoster: клонирование, экспрессия и исследование антигенных свойств. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016;15(1):77–85. Alatorceva GI, Sidorov AV, Nesterenko LN, Luhverchik LN, Amiantova II, Docenko VV, et al. Recombinant analogue of Varicella Zoster virus glycoprotein E: Cloning, expression and studying of antigen properties. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(1):77–85 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-77-85>
 31. Зверев ВВ, Нагиева ФГ, Баркова ЕП, Строева АД, Сидоров АВ. Вирусный штамм для получения аттенуированной живой культуральной вакцины для профилактики и лечения опоясывающего герпеса для взрослого населения. Патент Российской Федерации № 2750818; 2020. Zverev VV, Nagieva FG, Barkova EP, Stroeve AD, Sidorov AV. Viral strain for obtaining attenuated live culture vaccine for prevention and treatment of herpes zoster for adult population. Patent of the Russian Federation No. 2750818C1; 2020 (In Russ.). EDN: [ACINJQ](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-77-85)
 32. Осокина ОВ, Баркова ЕП, Нагиева ФГ, Зверев ВВ. Штамм «vFiraVax» для получения аттенуированной живой культуральной вакцины для профилактики ветряной оспы. Патент Российской Федерации № 2693440; 2019. Zverev VV, Nagieva FG, Barkova EP, Osokina OV. Strain “vFiraVax” for producing an attenuated alive culture vaccine for preventing varicella. Patent of the Russian Federation No. 2693440; 2019 (In Russ.). EDN: [JWECLQ](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-77-85)

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.С. Коровкин** — концепция работы, утверждение окончательной версии рукописи для публикации; **Д.В. Горенков** — обработка и анализ данных литературы, написание текста рукописи; **А.А. Солдатов и В.А. Меркулов** — критическое обсуждение и редактирование текста рукописи.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.S. Korovkin** conceptualised the study and approved the final version of the manuscript for publication. **D.V. Gorenkov** processed and analysed literature data and drafted the manuscript. **A.A. Soldatov** and **V.A. Merkulov** critically discussed and edited the manuscript.

Об авторах / Authors

Коровкин Алексей Сергеевич, канд. мед. наук / **Alexey S. Korovkin**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3241-1053>

Горенков Дмитрий Витальевич / **Dmitry V. Gorenkov**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0940-8080>

Солдатов Александр Алексеевич, д-р мед. наук / **Aleksandr A. Soldatov**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6624-2692>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф. / **Vadim A. Merkulov**, Dr. Sci. (Med.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 28.01.2025

После доработки 04.03.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 28 January 2025

Revised 4 March 2025

Accepted 21 March 2025

УДК 616.9:616-036:614.44

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-47-57>

Обзор | Review



Столбняк у непривитых лиц: обзор клинических случаев

Е.И. Комаровская[✉], О.В. Проскурина

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

✉ Комаровская Елена Игоревна; Komarovskaya@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Случаи заболевания столбняком ежегодно регистрируются в различных странах мира, главным образом среди невакцинированных или частично вакцинированных лиц. Анализ случаев заболевания столбняком и выявление причин отсутствия вакцинации, включая отказы от ее проведения, имеют большое значение для привлечения внимания специалистов системы здравоохранения к данной проблеме.

ЦЕЛЬ. Обзор клинических случаев столбняка у непривитых или частично привитых лиц, анализ причин отсутствия вакцинации и выявление проблем, связанных с профилактической вакцинацией от данного заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ. Анализ эпидемиологических данных показал, что случаи заболеваемости столбняком ежегодно фиксируют практически во всех странах мира. В 2023 г. в мире было зарегистрировано 21830 случаев столбняка (по данным ВОЗ), в Российской Федерации — 8 случаев. Основной проблемой при диагностике столбняка является отсутствие надежных методов лабораторного подтверждения диагноза. Специфическая терапия с применением лошадиной противостолбнячной сыворотки сопряжена с рисками развития аллергических реакций. Несмотря на то что столбняк традиционно считается инфекцией, которая может развиваться в случаях появления глубоких и загрязненных почвой ран, у непривитых или частично привитых лиц даже незначительные травмы могут привести к развитию инфекции. Проведен анализ клинических случаев столбняка (13 случаев), развившегося у невакцинированных или частично вакцинированных лиц вследствие незначительных травм или травм, ограниченно загрязненных почвой. В описанных случаях все заболевшие дети не были вакцинированы из-за религиозных и/или личных мотивов родителей. Анализ клинических случаев у взрослых выявил, что заболевание развивалось из-за небрежного отношения к травме и несвоевременного обращения за медицинской помощью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Проблема заболеваемости столбняком связана с недостаточной информированностью населения об опасности заболевания и ростом числа противников вакцинации. Необходимо активное взаимодействие специалистов системы здравоохранения, представителей общественных организаций и религиозных общин с целью улучшения пропаганды вакцинации и санитарно-просветительской работы, что позволит повысить доверие населения к вакцинопрофилактике, увеличит охват профилактическими прививками и снизит риски инфицирования столбняком.

Ключевые слова: столбняк; вакцины против столбняка; вакцинация; непривитые лица; клинический случай; противостолбнячная сыворотка; противостолбнячный иммуноглобулин; отказ от вакцинации; антипрививочное движение; столбнячный токсин; раневая инфекция; тризм

Для цитирования: Комаровская Е.И., Проскурина О.В. Столбняк у непривитых лиц: обзор клинических случаев. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):47–57. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-47-57>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР № 124022200103-5).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

© Е.И. Комаровская, О.В. Проскурина, 2025

Tetanus in unvaccinated persons: A review of case reports

Elena I. Komarovskaya✉, Olga V. Proskurina

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

✉ Elena I. Komarovskaya; Komarovskaya@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Cases of tetanus are registered annually throughout the world, mainly in unimmunised or incompletely immunised populations. Analysis of tetanus cases and identification of the reasons for non-vaccination, including refusal to vaccinate, are important for drawing the attention of health professionals to this issue.

AIM. This study aimed to review case reports of tetanus in unvaccinated or partially vaccinated individuals, analyse reasons for non-vaccination, and identify problems associated with preventive vaccination against tetanus.

DISCUSSION. According to epidemiological data, cases of tetanus are recorded every year in almost every country in the world. In 2023, the World Health Organisation (WHO) reported 21,830 cases of tetanus worldwide, and the Russian Federation reported 8 tetanus patients, including children. The main issue with diagnosing tetanus lies in the lack of reliable laboratory tests for confirming tetanus. Tetanus-specific therapy with tetanus antitoxin (equine) is associated with the risk of allergic reactions. Traditionally, tetanus is considered an infection that develops only in patients with deep and soil-contaminated wounds. However, unvaccinated or partially vaccinated individuals are at high risk of tetanus, even with minor wounds. This study involved an analysis of case reports of tetanus (13 cases) in unvaccinated or partially vaccinated individuals with minor wounds or wounds minimally contaminated with soil. In all the paediatric tetanus cases discussed in this article, the parents had not vaccinated their children for religious and/or personal reasons. The analysis of case reports of tetanus in adults showed that the patients had not taken their wounds seriously and had not sought medical help before the onset of the disease.

CONCLUSIONS. The concerning incidence of tetanus is attributed to insufficient public awareness of the dangers of the disease and the rising number of people refusing vaccines. Health professionals, public organisations, and religious communities should work together to promote vaccination and improve health education. This will enhance public confidence in vaccination, increase preventive vaccination coverage, and reduce the incidence of tetanus.

Keywords: tetanus; tetanus vaccine; vaccination; unvaccinated persons; case report; tetanus antitoxin (equine); tetanus immune globulin; vaccination refusal; anti-vaccination movement; tetanus toxin; wound infection; trismus

For citation: Komarovskaya E.I., Proskurina O.V. Tetanus in unvaccinated persons: A review of case reports. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):47–57. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-47-57>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022200103-5).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Столбняк относится к инфекционным заболеваниям, эффективно управляемым посредством вакцинации. Вакцина против столбняка считается одной из наиболее эффективных и безопасных. Несмотря на это, ежегодно в мире, включая страны с высоким прививочным охватом, регистрируются случаи заболевания среди

всех возрастных групп, в том числе с летальными исходами [1, 2]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в мире в 2021, 2022 и 2023 гг. число зарегистрированных случаев столбняка составило 9828, 6705 и 21830 соответственно¹. В Российской Федерации в 2021, 2022 и 2023 гг. выявлено 8, 11 и 8 случаев соответственно, в том числе у детей (от 0

¹ [Tetanus reported cases and incidence](#). WHO; 2023.

до 17 лет)². В странах Европейского региона в 2022 г. зарегистрировано 53 случая заболевания, из которых 7 летальных³.

В основном столбняк развивается у детей, которые либо не были вакцинированы, либо не завершили полный курс вакцинации, а также у лиц молодого возраста, не получивших ревакцинацию (бустерные дозы). Случаи заболевания могут регистрироваться и среди взрослого населения при отсутствии дополнительного курса вакцинации, проводимого каждые 10 лет. Наибольшему риску подвержены лица, сознательно отказывающиеся от вакцинации (противники вакцинации).

Результаты мониторинга напряженности иммунитета против столбняка показали низкий уровень охвата вакцинацией лиц в возрасте от 65 лет и старше⁴, а также недоношенных новорожденных [3, 4]. Учитывая невозможность полной элиминации возбудителя инфекции и тяжесть течения столбняка, необходимо обеспечить высокий уровень вакцинации всех возрастных групп.

Проблемам заболеваемости столбняком посвящено значительное количество публикаций⁵ [5–11]. Вместе с тем актуальным представляется проведение анализа клинических случаев столбняка за последние 15 лет по материалам имеющихся публикаций с включением случаев заболеваний, развившихся у невакцинированных или частично вакцинированных лиц в результате незначительных или нетипичных травм, а также у детей, родители которых сознательно отказались от их вакцинации.

Цель работы – обзор клинических случаев столбняка у непривитых или частично привитых лиц, анализ причин отсутствия вакцинации и выявление проблем, связанных с профилактической вакцинацией от данного заболевания.

Поиск информации проводили в библиографических базах данных eLIBRARY.RU, PubMed, ScienceDirect по ключевым словам на русском и английском языках: «клинические случаи столбняка», «столбнячный токсин», «заболеваемость столбняком». Были проанализированы обзорные, оригинальные статьи и описания клинических случаев, опубликованные в период с 2009 по 2024 гг. В обзор не включены публикации с описанием случаев неонатального столбняка. Дополнительно была использована информация, размещенная на сайтах ВОЗ, Центров по контролю и профилактике заболеваний США

(Centers for Disease Control and Prevention, CDC), Европейского центра профилактики и контроля заболеваний (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC), Единой межведомственной информационно-статистической системы (ЕМИСС).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Столбнячная интоксикация

Клиническая картина столбняка обусловлена действием столбнячного токсина, который продуцирует спорообразующая бактерия *Clostridium tetani*. Споры *C. tetani* распространены практически повсеместно и остаются жизнеспособными на протяжении длительного времени. В связи с этим столбняк не может быть полностью элиминирован.

C. tetani попадает в организм через рану. При наличии анаэробных условий споры прорастают и начинают вырабатывать токсин. Из раны токсин высвобождается посредством аутолиза и распространяется через кровь и лимфатическую систему к центральной нервной системе (спинной мозг и ствол мозга) [12–15]. Токсин (тетаноспазмин) блокирует высвобождение тормозных нейротрансмиттеров в нервно-мышечном соединении и нейронах центральной нервной системы, что приводит к неконтролируемым мышечным сокращениям.

Тетаноспазмин представляет собой белок молекулярной массой около 150 кДа, состоящий из тяжелой (100 кДа) и легкой цепей (50 кДа), связанных через дисульфидные и нековалентные связи. Тяжелая цепь токсина взаимодействует с рецептором на поверхности пресинаптической мембраны двигательного нейрона и обеспечивает проникновение легкой цепи в клетку [12–15]. Сначала токсин достигает периферических двигательных нервных окончаний – основное место входа в нейроны. После проникновения в нейрон дисульфидные связи, удерживающие тяжелую и легкую цепи токсина, разрушаются. В составе эндоцитозных пузырьков легкая цепь токсина перемещается по аксону при помощи ретроградного движения в центральную нервную систему. Этот процесс может занимать от 2 до 14 сут. Достигнув спинного мозга, токсин проникает в центральные тормозные нейроны и блокирует высвобождение гамма-аминомасляной кислоты и глицина. В результате воздействия столбнячного токсина нарушается ингибирующее действие на двигательные и вегетативные

² ЕМИСС. Государственная статистика. Число зарегистрированных случаев инфекционных заболеваний. <https://fedstat.ru/SurveillanceAtlasofInfectiousDiseases>. ECDC; 2023.

³ [Tetanus – Annual epidemiological report for 2022](https://ecdc.europa.eu/en/tetanus). ECDC; 2024.

⁵ <https://ourworldindata.org/tetanus>

нейроны, что приводит к вегетативной гиперактивности и неконтролируемым мышечным сокращениям и спазмам даже в ответ на слабые стимулы, такие как звук или свет. Возникает мышечная ригидность и спазмы, проявляющиеся в виде тризма (спазм жевательных мышц), сардонической улыбки, дисфагии, опистотонуса (резкое выгибание спины), а в случае ригидности и спазмов дыхательных, гортанных и брюшных мышц может наступить паралич органов дыхания и дыхательная недостаточность [12–15].

Следует отметить, что человек обладает исключительной чувствительностью к столбнячному токсину. При столбняке не нарушается высшая нервная деятельность. Больной столбняком терпит сильнейшие боли, обусловленные судорожными сокращениями мускулатуры, при полностью сохраненном сознании.

Диагностика и лечение столбняка

Основная сложность диагностики столбняка заключается в отсутствии надежных методов лабораторного подтверждения диагноза. Рекомендуется проводить лабораторные исследования раневого материала для высева культуры *C. tetani* или обнаружения возбудителя при помощи ПЦР-анализа⁶. Тем не менее отрицательный результат этих анализов не позволяет исключить клинический диагноз столбняка. Кроме того, при диагностике рекомендуется определение уровня противостолбнячных антител в сыворотке крови (защитный титр 0,1 МЕ/мл)⁷. Однако даже при наличии защитных уровней антител регистрировались клинические случаи столбняка [8, 16–19]. В связи с этим установленное значение защитного титра противостолбнячных антител остается в настоящее время предметом дискуссии [16].

Основным мероприятием при начале лечения столбняка является тщательный сбор данных о прививочном анамнезе, характере полученной раны, проявлениях клинических симптомов заболевания, а также данных об иммунном статусе⁸. Особое внимание следует обращать на раны, загрязненные почвой, содержащие инородные предметы; сложные переломы; обморожения или ожоги; укусы животных (включая змей); травмы, полученные на производстве и в дорожно-

транспортных происшествиях; роды в условиях с ненадлежащей гигиеной и нестерильными инструментами, криминальные аборты. Описание клинических случаев столбняка, представленных в данном обзоре, ярко демонстрирует, что любая травма потенциально опасна для развития заболевания (табл. 1).

Госпитализация при столбняке обязательна. Лечение включает в себя немедленное введение специфических (антитоксических) препаратов — противостолбнячного человеческого иммуноглобулина (ПСЧИ) или лошадиной противостолбнячной сыворотки (ПСС), вакцинацию столбнячным анатоксином (экстренная профилактика), противосудорожную терапию, лечение осложнений и сопутствующих инфекций (антибиотики)⁹. Антитоксические препараты следует вводить оперативно, в первые часы после подозрения на столбняк, поскольку, как только токсин достиг клеток-мишеней, применяемые препараты будут неэффективны.

Одной из важных проблем при использовании антитоксических препаратов является их происхождение: гетерологичные препараты — лошадиная сыворотка противостолбнячная или гомологичные препараты — противостолбнячный человеческий иммуноглобулин. Некоторые страны (США, Канада, Великобритания, ряд стран Европейского союза) отказались от производства гетерологичных антитоксических препаратов.

Введение чужеродного белка в составе ПСС связано с рисками развития реакций немедленного и замедленного типов, а также сывороточной болезни, поэтому предпочтительно использование ПСЧИ. Однако иммуноглобулин обладает невысокой, по сравнению с сывороткой, активностью, поэтому его вводят в значительных объемах (от 250 до 500 мл). Лечебная доза препарата сыворотки противостолбнячной лошадиной очищенной концентрированной (сыворотка противостолбнячная)¹⁰ содержится в небольшом объеме — 2–3 мл, что связано с особенностями производства этого лекарственного средства. Для достижения высокой активности (титра) сыворотки лошадей иммунизируют нативным столбнячным анатоксином, получаемым из столбнячного

⁶ [Guidance on the management of suspected tetanus cases and the assessment and management of tetanus-prone wounds](#). UK Health Security Agency; 2024.

⁷ [The immunological basis for immunization series Module 3: Tetanus](#). WHO; 2018.

⁸ [Clinical Guidance for Wound Management to Prevent Tetanus](#). CDC; 2024.
[Tetanus](#). WHO; 2024.

Эпидемиологический надзор за столбняком: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2009.

⁹ Там же.

¹⁰ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

токсина, что не применимо в отношении людей. ПСЧИ получают путем иммунизации доноров столбнячным анатоксином (Анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий для доноров)¹¹.

ПСЧИ и ПСС обеспечивают кратковременный пассивный иммунитет — антитела циркулируют в организме человека от 2 до 4 нед., после чего постепенно исчезают, при этом не происходит выработка собственных антител. Для стимуляции иммуногенеза и выработки специфических защитных антител применяется столбнячный анатоксин (например, Анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий¹²), который обеспечивает длительную защиту от заболевания.

Необходимо отметить, что лица, переболевшие столбняком, не приобретают естественный иммунитет и могут заболеть вновь¹³. Это объясняется особенностью возбудителя, который локализуется исключительно в месте ранения и продуцирует токсин, при этом иммунная система организма не может распознать возбудителя. Именно эта особенность определяет характер приобретаемого после вакцинации иммунитета — он формируется как антитоксический, но не антибактериальный.

Мероприятия по профилактике столбняка

Единственным надежным способом защиты от столбняка является своевременная вакцинация. Плановая вакцинация проводится согласно утвержденной схеме иммунизации в рамках национального календаря профилактических прививок¹⁴. Об эффективности вакцинации наглядно свидетельствуют данные о снижении заболеваемости столбняком в мире и Российской Федерации¹⁵. Так, в Российской Федерации в допрививочный период (с 1951 по 1955 гг.) заболеваемость столбняком составляла 0,87 на 100 тыс. населения, а после начала массовой иммунизации населения (с 60-х гг. прошлого века) этот показатель неуклонно снижался и к 2000 г. составил 0,026 на 100 тыс. населения. В настоящее время в России регистрируют единичные случаи заболевания столбняком¹⁶.

Для профилактики столбняка применяют адсорбированный столбнячный анатоксин (СА), который получают, инактивируя токсин столбнячного микроба формальдегидом и нагреванием. Полученный препарат проходит несколько стадий очистки (кислотно-солевое осаждение, хроматография, ультра- и микрофильтрация). Очищенный СА подвергается тщательному контролю на соответствие его качественных характеристик требованиям ВОЗ¹⁷.

Вакцина от столбняка включена во все национальные программы иммунизации. Для продолжительной защиты, согласно рекомендациям ВОЗ¹⁸, каждый новорожденный должен получить 3 дозы вакцины, начиная с 6 нед. жизни, затем 3 ревакцинирующие дозы в возрасте с 4 до 15 лет. Антитоксический противостолбнячный иммунитет полноценно привитого человека сохраняется в течение примерно 10 лет. Поэтому взрослый человек на протяжении всей своей жизни должен раз в 10 лет проходить вакцинацию против столбняка. Обычно вакцинацию детей проводят комбинированным препаратом, содержащим кроме дифтерийного и столбнячного анатоксинов другие компоненты (коклюшный, гепатитный и др.). Вакцины, предназначенные для взрослых, содержат, как правило, только два компонента — дифтерийный и столбнячный, или только столбнячный. Вакцины для взрослых не имеют ограничения для применения по возрасту.

В странах, где национальные программы поддерживают высокий уровень охвата иммунизацией в течение нескольких десятилетий, показатели заболеваемости столбняком очень низкие¹⁹.

Обзор клинических случаев столбняка у невакцинированных или частично вакцинированных лиц

Случаи столбняка ежегодно регистрируются среди людей всех возрастных групп, и, к сожалению, не исключены летальные исходы. Анализ средств массовой информации, социальных сетей, блогов, популярной литературы выявил низкую информированность населения о мерах профилактики столбняка и настороженное

¹¹ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

¹² Там же.

¹³ <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/tetanus>

¹⁴ Приказ Минздрава России от 06.12.2021 № 1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок».

¹⁵ <https://ourworldindata.org/tetanus>

<https://www.statista.com/statistics/1121381/tetanus-cases-worldwide-by-region/>

https://gateway.euro.who.int/ru/indicators/hfa_333-2110-incidence-of-tetanus-per-100-000/#id=19264

¹⁶ ЕМИСС. Государственная статистика. Число зарегистрированных случаев инфекционных заболеваний. <https://fedstat.ru/>

¹⁷ WHO Expert Committee on Biological Standardization. 40th report. WHO; 1990.

¹⁸ Immunization, Vaccines and Biologicals. Tetanus. WHO.

¹⁹ Tetanus reported cases and incidence. WHO; 2023.

отношение к вакцинации против этого заболевания²⁰ [20, 21]. В перечисленных источниках имеется информация о том, что промывание легкой раны (ссадина, царапина, заноза) в домашних условиях, а также хирургическая обработка полностью устраняет опасность развития столбнячной инфекции. Однако хирургическая обработка раны не всегда может быть проведена своевременно и полноценно, а промывание даже «легкой» раны в домашних условиях не снижает угрозы развития инфекции. Кроме того, пострадавшие в бытовых условиях часто не обращаются за медицинской помощью своевременно, усугубляя течение и исход заболевания. Следует также отметить наличие публикаций (включая официальные сайты), содержащих ошибочную информацию, например, о рисках развития столбняка в основном после травм нижних конечностей²¹. Кроме того, противники вакцинации активно распространяют дезинформацию, искажающую современные научные достижения и успехи общественного здравоохранения, формируя страх перед вакцинами. Антипрививочные настроения снижают приверженность населения к профилактическим прививкам, что ведет к уменьшению охвата иммунизацией в установленных возрастных группах²² [20, 21].

В *таблице 1* представлены случаи столбняка, возникшие у частично вакцинированных или невакцинированных детей и взрослых. Все описанные клинические случаи столбняка возникли вследствие отсутствия поствакцинального иммунитета из-за отказа от вакцинации или несоблюдения графика профилактических прививок. Критериями отбора случаев среди детей служили: отсутствие вакцинации, легкая травма (заноза, ссадина), летальный исход; у взрослых: легкая травма, необычные условия травмирования (петарда, зубочистка), нарушение гигиены обработки раны, редкие клинические проявления (нарушение мочеиспускания).

Анализ представленных клинических случаев столбняка у взрослых указывает на частое легкомысленное отношение к полученным травмам, а также недостаточное внимание к гигиенической обработке ран. Отмечаются случаи несвоевременного обращения в медицинские учреждения за первичной помощью. Следует

отметить, что экстренная иммунизация против столбняка после получения повреждения имеет большое значение для поддержания высокого уровня защиты, так же, как и плановая вакцинация.

Клинические случаи заболевания столбняком среди детей во многом обусловлены влиянием на родителей пропаганды антипрививочного движения. Представители этого движения распространяют идеи о якобы бесполезности вакцинации, полностью игнорируя современные научные данные по безопасности и эффективности вакцин, а также об их значимом вкладе в снижение заболеваемости тяжелыми инфекциями, приводящими к инвалидизации и смертельным исходам [20, 21, 35]. Так, в 2019 г. согласно информации CDC был зафиксирован тяжелый случай столбняка у непривитого ребенка, родители которого активно поддерживали антипрививочное движение. Данный инцидент вызвал широкий общественный резонанс благодаря сочетанию следующих факторов: активная антипрививочная позиция родителей, длительность и сложность лечения, а также значительные финансовые траты на лечение, составившие порядка 800 тыс. долларов²³.

Причиной отказа от профилактических прививок в некоторых случаях являются религиозные убеждения, занимающие второе место в структуре отказов. Важно отметить, что такие аргументы неоднократно опровергались представителями всех религиозных конфессий²⁴. Тем не менее родители продолжают игнорировать эти разъяснения, несмотря на риск от инфекционных заболеваний, что связано с активной деятельностью антипрививочного движения, которое по массовости воздействия зачастую превосходит усилия врачей и ученых, стремящихся противостоять подобным утверждениям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на наличие высокоэффективных вакцин против столбняка, это заболевание ежегодно поражает десятки тысяч людей по всему миру. Высокому риску развития инфекции подвергаются невакцинированные или не полностью вакцинированные люди. В связи с этим регулярная ревакцинация против столбняка

²⁰ <https://vaccina.info/History-of-vaccines.History-of-Anti-Vaccination-Movements.https://34.ropotrebnadzor.ru/content/202/9711/>

²¹ <https://34.ropotrebnadzor.ru/content/202/9711/History-of-vaccines.History-of-Anti-Vaccination-Movements.>

²³ [Notes from the Field: Tetanus in an Unvaccinated Child – Oregon, 2017](#). CDC; 2019.

²⁴ [Religious concerns: resources and information](#). Immunize.org; 2024.
[Прививки и мировые конфессии](#). ЮНИСЕФ; 2022.

Таблица 1. Клинически подтвержденные случаи столбняка у детей и взрослых
Table 1. Clinically confirmed cases of tetanus in children and adults

Год, страна Year, country	Возраст (пол) Age (sex)	Иммунный статус Vaccination status	Локализация и характер травмы Inoculation site and wound characteristics	Период после травмы, клинические проявления Post-injury period, clinical manifestations	Лечение и исход заболевания Treatment and outcomes
2023, Бразилия Brazil	16 (муж) (male)	Не вакцинирован Unvaccinated	Повреждение руки при переноске строительных материалов из железа The patient sustained a hand injury while carrying iron construction materials	Через 10 сут: генерализованные спазмы, тризм In 10 days: trismus, generalised muscle spasms	Введено: ПСС и ПСЧИ. Полностью восстановлен [22] Treatment received: TA, TIG. The treatment was successful [22]
2023, Беларусь Belarus	8 (жен) (female)	Не вакцинирована (религиозные и личные убеждения родителей) Unvaccinated (parents' religious and personal beliefs)	Заноза в стопе. Занозу родители самостоятельно удалили The patient had a splinter in the foot. The splinter was removed by the parents	В течение 7–10 сут: тризм, боли в области головы и шеи, нарушение речи, лихорадка (температура не измеряли — в семье не было термометра). Поступила в состоянии гипертонуса Within 7–10 days: trismus, head and neck pain, speech impairment, fever (no exact measurements, no thermometer in the household). At admission: hypertonus	От введения ПСС и СА родители девочки отказались. После длительного пребывания в стационаре лечение было скорректировано, введен СА. Выписана в стабильном состоянии [23] The girl's parents refused TA or TT. After a long hospital stay, the treatment was adjusted, and TA was administered. The patient was discharged in stable condition [23]
2023, Кыргызстан Kyrgyzstan	5 (муж) (male)	Не вакцинирован (религиозные убеждения родителей) Unvaccinated (parents' religious beliefs)	Стопа. Наступил на гвоздь (глубина раны 0,5 см). Рана быстро затянулась, за медицинской помощью не обращался The patient stepped on a nail with his foot. The wound was 0.5 cm deep and healed quickly. The patient did not seek medical attention	Через 10 сут: температура (39,8 °C), опистотонус In 10 days: fever (39.8 °C), opisthotonus	Введено: ПСС 90 тыс. МЕ, интенсивная терапия. На 3 сут лечения констатирована биологическая смерть [24] Treatment received: TA (90,000 IU), intensive care. The patient died on day 3 of treatment [24]
2022, Индонезия Indonesia	44 (муж) (male)	Нет данных (пациент не мог вспомнить) No data (no recollection of having been vaccinated)	Столбняк одонтогенного происхождения. Пациент часто использовал зубочистку для чистки межзубного пространства The patient had tetanus of odontogenic origin. He often used a toothpick to poke his interdental gingiva	Обратился в больницу с жалобами на невозможность открыть рот, трудности при глотании, сардоническую улыбку, боль и скованность в области шеи At admission: lockjaw and difficulty swallowing, rictus grin, pain and stiffness in the neck and jaw	Введено: ПСЧИ 3000 МЕ. Через 2 нед. выписан с выздоровлением [25] Treatment received: TIG (3,000 IU). The patient was successfully treated and discharged in 2 weeks [25]
2021, Индонезия Indonesia	7 (жен) (female)	Не вакцинирована (низкая масса тела при рождении; религиозные убеждения) Unvaccinated (low body weight at birth, parents' religious beliefs)	Травма головы (рана на лбу). Ударилась головой о цементный пол в общественном туалете. Сразу обратилась за помощью — рана была зашита The patient had a forehead laceration from falling and hitting her head on the cement floor in a public restroom. She was brought to a healthcare facility immediately and underwent wound suturing	Через 10 сут: ригидность затылочных мышц, тризм, двигательная спастичность, на черепе гнойная рана (2×1,5×0,5 см). Поставлены диагнозы: столбняк и перелом черепа In 10 days: nuchal rigidity, trismus, motoric spasticity, a purulent scalp wound (2×1.5×0.5 cm). Diagnoses: tetanus and skull fracture	Введено: ПСЧИ 3000 МЕ. Проведена операция по устранению перелома черепа. Через 3 нед. выписана с выздоровлением [26] Treatment received: TIG (3,000 IU), skull fracture repair surgery. The patient was successfully treated and discharged in 3 weeks [26]

Продолжение таблицы 1
 Table 1 (continued)

Год, страна Year, country	Возраст (пол) Age (sex)	Имунный статус Vaccination status	Локализация и характер травмы Inoculation site and wound characteristics	Период после травмы, клинические проявления Post-injury period, clinical manifestations	Лечение и исход заболевания Treatment and outcomes
2021, Россия Russia	11 (муж) (male)	Не вакцинирован (мать противница вакцинации) Unvaccinated (mother's religious beliefs)	Стопа. Наступил на гвоздь. Сразу обратился в травмпункт, проведена санация раны, введен АДС-М-анаток- син The patient stepped on a nail with his foot and was brought to a healthcare facility immediately. The wound was treated, and Td was administered	На 8 сут развился тризм, спазм мышц спины On day 8: trismus, back rigidity	Введено: ПСС 60 МЕ. Выписан на 26 сут [27] Treatment received: TA (60 IU). The patient was discharged in 26 days [27]
2019, Канада Canada	33 (муж) (male)	Вакцинирован полностью в детстве Fully vaccinated as a child	Травмы рук, полученные в результате драки (небольшие порезы и ссадины на руках). В связи с профессиональ- ной деятельностью (технолог по ис- следованию почв) пациент регулярно контактировал с почвой и грязью. За медицинской помощью не обращался The patient injured his hands in an altercation (small cuts and abrasions). The patient worked as a soil testing technolo- gist: he was regularly exposed to dirt and soil. He did not seek medical attention	Через 10 сут: тошнота, рвота, боли и спазмы в области поясницы. При осмотре в отде- лении — интенсивные спазмы, прогрессирую- щие до выгибания спины, и связанные с опре- деленными триггерами — звук и движение the lumbar region. At admission: intense spasms that were triggered by sound and movement and progressed to opisthotonus	Введено: ПСЧИ 500 МЕ. Интенсив- ная терапия. Выписан через 34 сут. Перенесенное заболевание привело к смещению межпозвоночного диска, что потребовало оперативного вме- шательства. Полностью восстановил- ся спустя два года [28] Treatment received: TIG (500 IU), intensive care. The patient was discharged in 34 days. Tetanus resulted in a slipped disc for which the patient required operative repair. Two years post-incident, he has fully recovered [28]
2018, Ирландия Ireland	22 (жен) (female)	Вакцинирована полностью в детстве Fully vaccinated as a child	Рука. Укус собаки. Рану не промывала. За медицинской помощью не обраща- лась The patient presented with a dog bite to her hand. She did not wash the wound or seek medical attention	Через 3 сут: приступы холода и жара, голов- ная боль, сердцебиение. Введен СА. Разви- лись трудности с открыванием рта и ходьбой In 3 days: feeling intermittently hot and cold, headache, and palpitations. TT was administered. Afterwards, difficulty opening the mouth and walking developed	Введено: ПСЧИ 3000 МЕ. Через 10 сут выписана в удовлетворительном состоянии [29] Treatment received: TIG (3,000 IU). The patient was discharged in satisfactory condition in 10 days [29]
2015, Япония Japan	34 (муж) (male)	Нет данных No data	Царапина нанесена дикой кошкой. За медицинской помощью не обращался The patient was scratched by a stray cat. The patient did not seek medical attention	Через 1 мес. поступил в стационар с дисфунк- цией мочевого пузыря, жалобы на трудности при ходьбе In 1 month (at admission): bladder dysfunction, difficulty walking	Введено: ПСЧИ. Через неделю полно- стью восстановился [30] Treatment received: TIG. The patient fully recovered in 1 week [30]
2012, Шри-Ланка Sri-Lanka	13 (жен) (female)	Получила полную иммунизацию до 5 лет Fully vaccinated before 5 years of age	Глаз. Повреждение при падении на пень дерева, было небольшое кровотечение. Обратилась за ме- дицинской помощью и оставлена в стационаре The patient injured her eye by falling on a tree stump and had minor bleeding. The patient was admitted to hospital	Через 2 сут: боль при движении глазом, лихорадка. На 7 сут — спазмы мышц шеи, опистотонус In 2 days: pain on eye movements, fever. On day 7: neck spasms, opisthotonus	Введено: ПСЧИ 4000 МЕ. Интенсив- ная терапия. После восстановления проведен курс вакцинации [31] Treatment received: TIG (4,000 IU), inten- sive care. The patient received a course of vaccination after recovery [31]

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Год, страна Year, country	Возраст (пол) Age (sex)	Иммунный статус Vaccination status	Локализация и характер травмы Inoculation site and wound characteristics	Период после травмы, клинические проявления Post-injury period, clinical manifestations	Лечение и исход заболевания Treatment and outcomes
2012, Япония Japan	49 (муж) (male)	Нет данных No data	Травма руки в результате несчастного случая на работе. Ампутация среднего пальца правой руки в области дистального межфалангового сустава (рука в перчатке была зажата между газовым баллоном и бетонным полом) The patient suffered a traumatic amputation of his right middle finger at the distal interphalangeal joint region. His gloved hand was caught between a gas cylinder and a concrete floor at work	Проведена хирургическая операция. Поскольку раны не были загрязнены почвой, специфическую противостолбнячную иммунную терапию не проводили. На 21 сут после операции появились признаки тризма и боли в спине The surgery was performed. No TT was injected since there was no soil contamination. In 21 days after surgery: tetanus with trismus and back pain	Введено: ПСЧИ 12000 МЕ. Полностью восстановлен через 12 нед. после операции [32] Treatment received: TIG (12,000 IU). The patient fully recovered in 12 weeks after surgery [32]
2009, Нидерланды Netherlands	4 (муж) (male)	Не вакцинирован (религиозные убеждения родителей) Unvaccinated (parents' religious beliefs)	Нога. Сдран ноготь на большом пальце ноги, небольшая гематома The patient had his big toenail torn off and a small local haematoma present	Через 3 сут: слабость, дисфагия, боль в горле, слюнотечение. Диагноз не установлен. Состояние ухудшалось, появились трудности при открывании рта In 3 days: weakness, dysphagia, sore throat, salivation. Tetanus not diagnosed. The condition worsened, difficulties with opening the mouth increased	Введено: ПСЧИ 3000 МЕ. Интенсивная терапия. Полностью восстановлен через 30 сут [33] Treatment received: TIG (3,000 IU), intensive care. The patient fully recovered in 30 days [33]
2008, Китай China	37 (жен) (female)	Нет данных No data	Грудная клетка. Ранение при взрыве петарды (диаметр 2 см). За медицинской помощью не обращалась The patient had a firecracker wound (2 cm diameter) in the chest. She did not seek medical attention	Постепенно появились скованность шеи и судороги мышц всех конечностей Gradually: stiffness in the neck and muscle cramps in all limbs	Введено: ПСС 1500 МЕ, ПСЧИ 150 МЕ/кг. Интенсивная терапия. Полное восстановление на 57 сут [34] Treatment received: TA (1,500 IU), TIG (150 IU/kg), intensive care. The patient fully recovered in 57 days [34]

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Примечание. ПСС — противостолбнячная сыворотка (лошадиная); ПСЧИ — противостолбнячный человеческий иммуноглобулин; СА — столбнячный анатоксин; МЕ — международные единицы; АДС-М — анатоксин дифтерийно-столбнячный с пониженным содержанием антигенов.

Note. TA, tetanus antitoxin (equine); TIG, tetanus immune globulin (human); TT, tetanus toxoid; IU, international units; Td, diphtheria-tetanus toxoid (low-dose antigen formulation).

в соответствии с национальными рекомендациями для всех возрастных групп населения имеет исключительную важность.

Особенности развития столбнячной интоксикации, отсутствие лабораторных тестов, способных подтвердить или исключить диагноз, сложности специфической терапии увеличивают риски летального исхода или инвалидизации после перенесенного заболевания.

Представленный обзор клинических случаев свидетельствует о том, что даже небольшие раны и ссадины могут представлять потенциальную опасность для развития столбняка наряду с тяжелыми травмами и повреждениями.

Анализ случаев заболевания столбняком среди непривитых или частично привитых лиц указывает на необходимость проведения систематической санитарно-просветительской работы среди населения, направленной на следующие аспекты:

- широкая пропаганда своевременного проведения плановых профилактических прививок,

включая вакцинацию новорожденных в соответствии с национальными рекомендациями;

- важность регулярной ревакцинации против столбняка взрослого населения в рамках установленного календаря профилактических прививок;
- необходимость своевременного проведения активно-пассивной экстренной профилактики столбняка при любых травмах;
- последовательное и аргументированное опровержение ложных утверждений противников вакцинации.

Для эффективного решения этих задач требуется активное взаимодействие специалистов системы здравоохранения, представителей общественных организаций и религиозных общин, обладающих необходимой компетенцией и авторитетом. Их деятельность позволит повысить доверие населения к вакцинопрофилактике, увеличить охват профилактическими прививками и, следовательно, снизить заболеваемость управляемыми инфекциями, включая столбняк.

Литература/References

1. Якимова ТН, Максимова НМ, Маркина СС, Яцковский КА, Жилина НЯ. Состояние противостолбнячного антитоксического иммунитета у населения Российской Федерации в настоящее время. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013;(5):54–9. Yakimova TN, Maximova NM, Markina SS, Yatskovsky KA, Zhilina NY. The present level of the tetanus antitoxic immunity among population of the Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013;(5):54–9 (In Russ.). EDN: [REFCPB](https://doi.org/10.17269/s41997-022-00732-7)
2. Salem N, Huang G, Squires SG, Salvadori MI, Li YA. Epidemiology of tetanus in Canada, 1995–2019. *Can J Public Health*. 2023;114(3):432–440. <https://doi.org/10.17269/s41997-022-00732-7>
3. Schatz D, Ellis T, Ottendorfer E, Jodoin E, Barrett D, Atkinson M. Aging and the immune response to tetanus toxoid: Diminished frequency and level of cellular immune reactivity to antigenic stimulation. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998;5(6):894–6. <https://doi.org/10.1128/CDLI.5.6.894-896.1998>
4. Ходкевич ПЕ, Куликова КВ, Деев ИА, Федорова ОС, Куликов ЕС. Вакцинопрофилактика недоношенных новорожденных: реальная клиническая практика. *Инфекционные болезни*. 2022;20(3):50–8. Hodkevich PE, Kulikova KV, Deev IA, Fedorova OS, Kulikov ES. Vaccination of premature infants: Real clinical practice. *Infectious Diseases*. 2022;20(3):50–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.20953/1729-9225-2022-3-50-58>
5. Li J, Liu Z, Yu C, Tan K, Gui S, Zhang S, et al. Global epidemiology and burden of tetanus from 1990 to 2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Int J Infect Dis*. 2023;132:118–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2023.04.402>
6. Mcelaney P, Iyanaga M, Monks S, Michelson E. The quick and dirty: A tetanus case report. *Clin Pract Cases Emerg Med*. 2019;3(1):55–8. <https://doi.org/10.5811/cpcem.2019.1.41301>
7. Abdi H, Caqli I, Mumin M, Osman J, Fricchione G, Chermali Z. Case series of tetanus diagnosis and management in Hargeisa City. *Clin Med Rev Case Rep*. 2020;7:312. <https://doi.org/10.23937/2378-3656/1410312>
8. Okuda M, Morizane A, Asaba S, Tsurui S, Tsuno R, Hatakenaka M, et al. An unexpected case of tetanus in a fully immunized 20-year-old female: A case report. *Int J Emerg Med*. 2024;17(1):59. <https://doi.org/10.1186/s12245-024-00633-1>
9. Srigley JA, Haider S, Johnstone J. A lethal case of generalized tetanus. *CMAJ*. 2011;183(9):1045–8. <https://doi.org/10.1503/cmaj.101121>
10. Gulamhussein MA, Li Y, Guha A. Localized tetanus in an adult patient: Case report. *J Orthop Case Rep*. 2016;6(4):100–2. <https://doi.org/10.13107/jocr.2250-0685.592>
11. Raia PJ. Tetanus: A case study. *J Am Board Fam Pract*. 2001;14(3):223–4.
12. Samaila A, Abdulkadir B, Kabir K, Aliyu S, Umar Z. Pathogenesis and management of tetanus. *UJMR*. 2018;3(1):16–23. <https://doi.org/10.47430/ujmr.1831.003>
13. Ovsepian SV, O'Leary VB, Ayvazyan NM, Al-Sabi A, Ntziachristos V, Dolly JO. Neurobiology and therapeutic applications of neurotoxins targeting transmitter release. *Pharmacol Ther*. 2019;193:135–55. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.08.016>
14. Megighian A, Pirazzini M, Fabris F, Rossetto O, Montecucco C. Tetanus and tetanus neurotoxin: From peripheral uptake to central nervous tissue targets. *J Neurochem*. 2021;158(6):1244–53. <https://doi.org/10.1111/jnc.15330>
15. Popoff MR. Tetanus in animals. *J Vet Diagn Invest*. 2020;32(2):184–91. <https://doi.org/10.1177/1040638720906814>
16. Akane Y, Tsugawa T, Hori T, Togashi A, Yoto Y, Inazawa N, et al. Tetanus in a partially immunized child. *J Infect Chemother*. 2018;24(12):980–2. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.05.002>
17. Tharu B, Ibrahim S, Shah M, Basnet S, Park T. An unusual case of evolving localized tetanus despite prior immunization and protective antibody titer. *Cureus*. 2020;12(7):e9498. <https://doi.org/10.7759/cureus.9498>
18. Atabek ME, Pirgon O. Tetanus in a fully immunized child. *J Emerg Med*. 2005;29(3):345–6. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2005.06.005>
19. Hahn BJ, Erogul M, Sinert R. Case report of tetanus in an immunized, healthy adult and no point of entry.

- J Emerg Med.* 2004;27(3):257–60.
<https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2004.03.015>
20. Оффит ПА. *Смертельно опасный выбор*. М.: Corpus; 2022. Offit PA. *Deadly choices*. Moscow: Corpus; 2022 (In Russ.).
 21. Galagali P, Kinikar A, Kumar V. Vaccine hesitancy: Obstacles and challenges. *Curr Pediatr Rep.* 2022;10(4):241–8. <https://doi.org/10.1007/s40124-022-00278-9>
 22. Deniz M, Erat T. Generalized tetanus: A pediatric case report and literature review. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2023;65:e40. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202365040>
 23. Сергиенко ЕН, Романова ОН, Астапов АА, Ключарева АА, Федорова ИВ, Стрижак МИ и др. Столбняк у невакцинированного ребенка: клинический случай. *Клиническая инфектология и паразитология.* 2023;12(1):68–75. Sergienko EN, Romanova ON, Astapov AA, Klyuchareva AA, Fedorova IV, Strizhak MI, et al. Tetanus in an unvaccinated child: A clinical case. *Clinical Infectology and Parasitology.* 2023;12(1):68–75 (In Russ.). <https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.1.028>
 24. Юнусов ТА, Радченко ЕА. Клинический случай генерализованной формы столбняка у ребенка. В кн.: *Технологические инновации и научные открытия. Сборник научных статей по материалам XII Международной научно-практической конференции*. Уфа; 2023. Yunusov TA, Radchenko EA. Clinical case of generalized tetanus in a child. In: *Technological innovations and scientific discoveries. Collection of scientific articles based on the materials of the XII International scientific and practical conference*. Ufa; 2023 (In Russ.). EDN: [CPCJDM](https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.1.028)
 25. Akbar M, Ruslin M, Yusuf ASH, Boffano P, Tomihara K, Forouzanfar T. Unusual generalized tetanus evolving from odontogenic infection: A case report and review of recent literature. *Heliyon.* 2022;8(9):e10810. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10810>
 26. Hakim DDL, Faried A, Nurhadiya A, Laymena EH, Arifin MZ, Imron A, et al. Infected open depressed skull fracture complicated with tetanus grade I in an unimmunized child: A rare case report with literature review. *Int J Emerg Med.* 2021;14(1):25. <https://doi.org/10.1186/s12245-021-00346-9>
 27. Козлов АА, Шевчук ИВ, Завьялов АЕ, Емельянов АН. Генерализованная форма столбняка у ребенка 11 лет: клиническое наблюдение. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.* 2021;11(1):69–75. Kozlov AA, Shevchuk IV, Zavialov AE, Emelyanov AN. Generalized tetanus in an 11-year-old boy: A case report. *Russian Journal of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care.* 2021;11(1):69–75 (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/psaic693>
 28. Medu O, Ogunyemi N, Hennink M, Mawer S, Styles-Mackinnon T, Wong A, et al. Tetanus in a vaccinated soil expert – a case report. *BMC Infect Dis.* 2023;23(1):760. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08780-1>
 29. Moynan D, O'Riordan R, O'Connor R, Merry C. Tetanus – a rare but real threat. *ID Cases.* 2018;12:16–17. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.02.004>
 30. Kira S, Sawada N, Aoki T, Kobayashi H, Takeda M, et al. Voiding dysfunction induced by tetanus: A case report. *Urol Case Rep.* 2016;5:6–8. <https://doi.org/10.1016/j.eucr.2015.12.004>
 31. Karunarathne S, Govindapala D, Fernando H. Tetanus following ocular wooden foreign body in incompletely vaccinated patient: A case report. *Asian Pac J Trop Dis.* 2012;2(6):495–6. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60110-8](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60110-8)
 32. Hayashida K, Murakami C, Fujioka M. Tetanus following replantation of an amputated finger: A case report. *Journal of Medical Cases.* 2012;6:343. <https://doi.org/10.1186/1752-1947-6-343>
 33. de Jong PR, de Heer-Groen T, Schröder CH, Jansen NJ. Generalized tetanus in a 4-year old boy presenting with dysphagia and trismus: A case report. *J Med Case Rep.* 2009;2:7003. <https://doi.org/10.1186/1757-1626-2-7003>
 34. Chun P, Ying-Zi H, Yi Y, Hai-Bo Q. Titration of high dose sedation is effective in severe tetanus: A case report. *Cases J.* 2009;2:6865. <https://doi.org/10.4076/1757-1626-2-6865>
 35. Комаровская ЕИ, Перелыгина ОВ. Современная ситуация по заболеваемости отдельными клостридиальными инфекциями: газовая гангрена и столбняк. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2021;21(1):31–8. Komarovskaya EI, Perelygina OV. Current incidence of certain clostridial infections: Gas gangrene and tetanus. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2021;21(1):31–8 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-1-31-38>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Е.И. Комаровская** — формирование цели и задач исследования, обобщение данных литературы, написание и критический пересмотр текста рукописи; **О.В. Проскурина** — поиск данных о клинических случаях столбняка, систематизация клинических случаев, оформление таблицы.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **E.I. Komarovskaya** formulated the aim and objectives of the study, summarised literature data, drafted and critically revised the manuscript. **O.V. Proskurina** searched for case reports of tetanus, systematised the case reports, and prepared the table.

Об авторах / Authors

Комаровская Елена Игоревна / Elena I. Komarovskaya
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9035-6072>

Проскурина Ольга Владимировна / Olga V. Proskurina
 ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1937-4946>

Поступила 16.08.2024

После доработки 24.01.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 16 August 2024

Revised 24 January 2025

Accepted 21 March 2025



Кандидатный препарат на основе модифицированных однодоменных антител для терапии ботулизма, вызванного ботулиническим токсином типа А

А.А. Деркаев^{1,✉}, Е.И. Рябова^{1,2}, И.Б. Есмагамбетов¹, Д.В. Щебляков¹,
А.Н. Носков¹, И.Д. Виноградова¹, В.В. Прокофьев¹, Д.С. Полянский¹,
Д.Ю. Логунов¹, А.Л. Гинцбург¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Гамалеи, д. 18, Москва, 123098, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К.И. Скрябина», ул. Академика Скрябина, д. 23, Москва, 109472, Российская Федерация

✉ Деркаев Артем Алексеевич; derkaev.a@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Основным методом лечения ботулизма в настоящее время является применение антитоксина ботулинического, однако использование данного препарата вызывает ряд побочных эффектов, включая аллергические реакции. Перспективным направлением для лечения интоксикации ботулиническим токсином представляется разработка препаратов на основе моноклональных антител, а именно однодоменных, модифицированных Fc-фрагментом IgG1 человека.

ЦЕЛЬ. Оптимизация лабораторной технологии получения и доклинические исследования эффективности препарата на основе однодоменного антитела, модифицированного Fc-фрагментом IgG1 человека (B11-Fc), для терапии и экстренной профилактики ботулизма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Для культивирования использовали клеточную линию СНО. Культивирование стабильного клона-продуцента B7 осуществляли в колбах Эрленмейера с использованием коммерчески доступных сред и подпиток. Для очистки препарата однодоменного антитела B11-Fc использовали многоступенчатую хроматографическую очистку (аффинная, анионообменная и мультимодальная), вирусную очистку и тангенциальную фильтрацию. Степень чистоты препарата оценивали с помощью ВЭЖХ и электрофореза. Гликановый профиль устанавливали с применением ВЭЖХ. Определение концентрации антител в культуральной жидкости, а также оценку равновесных констант диссоциации антитела с различными Fc-рецепторами проводили с использованием метода биослойной интерферометрии. Ботулинический токсин типа А (BoNT/A) получали путем культивирования штамма *Clostridium botulinum* A98 и дальнейшей хроматографической очистки токсина. Экспериментальные исследования *in vivo* проводили на мышах-самках линии BALB/c. BoNT/A вводили внутривенно (в/в) или внутримышечно (в/м), оценивали тяжесть токсических признаков. Препарат антител вводили внутримышечно (в/м) или внутривенно (при исследовании фармакокинетики). Проводили изучение эффективности препарата антител (по показателю выживаемости мышей) на различных моделях интоксикации и в разных режимах применения.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Проведена оптимизация условий культивирования клона-продуцента антитела B11-Fc. Разработанная технология очистки антитела B11-Fc обеспечивала высокий

выход антитела (0,5 г/л) с чистотой более 99%. Средний диаметр частиц в препарате — 7,85 нм. Проведена характеристика гликанового профиля препарата. Определены равновесные константы диссоциации антитела B11-Fc с различными Fc-рецепторами человека. Проведено моделирование интоксикации BoNT/A на мышах. Введение (в/м) препарата антител B11-Fc в дозе 0,6 мг/кг обеспечивало 100% протективный эффект при одновременном в/б введении BoNT/A в дозе 20 LD₅₀. Определены основные фармакокинетические параметры антитела B11-Fc. Продемонстрирована защитная эффективность препарата в профилактическом режиме применения — в течение 21 сут при в/б введении 5 LD₅₀ токсина. В терапевтическом режиме применения через 14 ч после в/ж введения токсина в дозе 12000 LD₅₀ (для в/б введения) антитело обеспечивало 100% защитный эффект.

ВЫВОДЫ. Проведена оптимизация лабораторной технологии получения кандидатного препарата на основе модифицированных однодоменных антител B11-Fc. В экспериментах *in vivo* на модели интоксикации ботулиническим токсином мышей показана высокая эффективность препарата для терапии и профилактики ботулизма. Полученные данные доклинических исследований позволили перейти к проведению фазы I клинических исследований на здоровых добровольцах.

Ключевые слова: ботулизм; ботулинический токсин типа A; BoNT/A; однодоменные антитела; VHH; однодоменные антитела, модифицированные Fc-фрагментом; терапия ботулизма; экстренная профилактика ботулизма; клетки CHO; модель интоксикации ботулиническим токсином

Для цитирования: Деркаев А.А., Рябова Е.И., Есмагамбетов И.Б., Щебляков Д.В., Носков А.Н., Виноградова И.Д., Прокофьев В.В., Полянский Д.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Кандидатный препарат на основе модифицированных однодоменных антител для терапии ботулизма, вызванного ботулиническим токсином типа А. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):58–70. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России «Разработка и доклиническое исследование безопасности и эффективности препарата на основе однодоменных антител для терапии интоксикации, вызванной ботулотоксином» № АААА-А18-118032790102-6.

Потенциальный конфликт интересов. А.Л. Гинцбург и Д.Ю. Логунов являются членами редакционной коллегии журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» с 2021 и 2024 г. соответственно. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

A modified single-domain antibody candidate for the treatment of botulism caused by botulinum toxin type A

Artem A. Derkaev^{1,✉}, Ekaterina I. Ryabova^{1,2}, Ilias B. Esmagambetov¹,
Dmitry V. Shcheblyakov¹, Anatoly N. Noskov¹, Irina D. Vinogradova¹,
Vladimir V. Prokofiev¹, Dmitry S. Polyansky¹, Denis Y. Logunov¹, Alexander L. Gintsburg¹

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 18 Gamaleya St., Moscow 123098, Russian Federation

² Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology — MVA by K.I. Skryabin, 23 Academician Skryabin St., Moscow 109472, Russian Federation

✉ Artem A. Derkaev; derkaev.a@yandex.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Currently, the primary treatment method for botulism is the use of botulinum antitoxin, which causes a number of side effects, including allergic reactions. The development of medicinal products based on monoclonal antibodies (mAbs), in particular, single-domain mAbs fused to the human IgG1 Fc fragment, holds promise for the treatment of botulinum toxin poisoning.

AIM. This study aimed to optimise the technology for laboratory-scale production of a single-domain mAb fused to the human IgG1 Fc fragment (B11-Fc) for botulism treatment and post-exposure prophylaxis and to conduct a preclinical efficacy study of this mAb.

MATERIALS AND METHODS. The study used CHO cells. B7, a stable clone producing the B11-Fc single-domain mAb, was cultured in Erlenmeyer flasks using commercially available media and feeds. The B11-Fc mAb was purified using multistep chromatography (including affinity, anion exchange, and multimodal chromatography steps), virus elimination, and tangential flow filtration. The purity of the B11-Fc mAb was assessed by high-performance liquid chromatography (HPLC) and electrophoresis. The glycan profile was established by HPLC. Bio-layer interferometry was used to measure the mAb concentration in the culture fluid and to determine the equilibrium dissociation constants for the mAb and various Fc receptors. Botulinum toxin type A (BoNT/A) was produced by culturing the *Clostridium botulinum* A98 strain and purified by chromatography. *In vivo* experiments involved intraperitoneal and intragastric administration of BoNT/A to female BALB/c mice, with a subsequent assessment of the severity of toxic signs. The B11-Fc mAb was administered intramuscularly or intravenously (to study the pharmacokinetics). The efficacy of the B11-Fc mAb (in terms of mouse survival) was studied using various toxicity models and the prophylactic and therapeutic modes of administration.

RESULTS. The study optimised culture conditions for the B11-Fc mAb producer clone and developed a mAb purification technology that ensured a high yield (0.5 g/L) and a purity of over 99%. The average particle size in the mAb preparation was 7.85 nm. The study characterised the glycan profile of the B11-Fc mAb and determined the equilibrium dissociation constants for the mAb and human Fc receptors. Poisoning with BoNT/A was modelled in mice. The intramuscular administration of the B11-Fc mAb at a dose of 0.6 mg/kg provided 100% protection from poisoning with BoNT/A that was simultaneously administered at a dose of 20 LD₅₀. The study determined the main pharmacokinetic parameters of the B11-Fc mAb. The experiments demonstrated that prophylactic administration of the B11-Fc mAb for 21 days had a protective effect against BoNT/A administered intraperitoneally at a dose of 5 LD₅₀, and therapeutic administration of the mAb 14 h after intragastric administration of the toxin at a dose of 12,000 intraperitoneal LD₅₀ provided 100% protection.

CONCLUSIONS. The authors optimised the technology for laboratory-scale production of the candidate modified single-domain mAb. *In vivo* experiments conducted using BoNT/A toxicity models demonstrated that the B11-Fc mAb is highly effective in botulism prevention and treatment. On the basis of preclinical data, phase I clinical trials have been initiated to study B11-Fc in healthy volunteers.

Keywords: botulism; botulinum toxin type A; BoNT/A; single-domain antibody; sdAb; variable heavy chain domain of a heavy chain antibody; VHH; Fc-fused single-domain antibody; botulism therapy; post-exposure botulism prophylaxis; CHO cells; botulism model

For citation: Derkaev A.A., Ryabova E.I., Esmagambetov I.B., Shcheblyakov D.V., Noskov A.N., Vinogradova I.D., Prokofiev V.V., Polyansky D.S., Logunov D.Y., Gintsburg A.L. A modified single-domain antibody candidate for the treatment of botulism caused by botulinum toxin type A. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):58–70. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591>

Funding. The study reported in this publication was carried out by the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation as part of publicly funded research project No. AAAA-A18-118032790102-6 "Development and preclinical safety and efficacy study of a single-domain antibody product for the treatment of botulinum toxin poisoning".

Disclosure. A.L. Gintsburg and D.Y. Logunov have been members of the Editorial Board of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment* since 2021 and 2024, respectively. The other authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Ботулинические токсины (botulinum neurotoxin, BoNT) являются опасными природными токсинами, продуцируемыми бактериями рода *Clostridium*. Попадание BoNT в организм человека даже в небольших количествах (>0,5 нг/кг) вызывает ботулизм — тяжелое заболевание,

характеризующееся острым симметричным нисходящим вялым параличом¹. В случае развития ботулизма необходима своевременная диагностика и ранняя терапия. Ежегодно в мире регистрируется около 1000 случаев ботулизма, 10% из которых являются летальными [1]. Ежегодно в Российской Федерации выявляется

¹ <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/botulism>

около 100–200 случаев ботулизма². В 2024 г. в России произошла вспышка ботулизма (более 400 заболевших)³.

Несмотря на то что ботулизм является хорошо описанным заболеванием с известной клинической картиной, его ранняя диагностика затруднена из-за относительно редкой встречаемости, а также симптомов, схожих с другими заболеваниями. Вследствие этого имеются сложности с началом ранней терапии и экстренной профилактики существующими средствами.

Основной метод лечения ботулизма — применение антитоксина ботулинического для нейтрализации свободно циркулирующего ботулотоксина. Существующие в настоящее время препараты антитоксина в виде сыворотки противоботулинической лошадиной являются универсальным доступным средством терапии. Однако применение препаратов вызывает ряд побочных эффектов, включая аллергические реакции и сывороточную болезнь [2]. Кроме того, для препаратов сыворотки могут возникать проблемы, связанные с вариацией показателей качества между партиями, а также вирусной безопасностью. Таким образом, актуальной задачей является разработка эффективных антитоксинов против BoNT с применением современных биотехнологических подходов, в том числе моноклональных и однодоменных антител.

В течение последних двух десятилетий были разработаны терапевтические препараты на основе моноклональных антител [3–5]. Такие препараты имеют значительный потенциал для эффективной нейтрализации токсинов. В настоящее время существуют несколько препаратов антител против различных токсинов, например препараты актоксумаб и безлотоксумаб, специфичные к токсинам бактерий *Clostridium difficile*.

Перспективным направлением является разработка препаратов однодоменных антител (variable heavy chain domain of a heavy chain antibody, VH), поскольку такие препараты характеризуются повышенной стабильностью, сниженной иммуногенностью, способностью связываться с труднодоступными эпитопами, а также проникать через гематоэнцефалический барьер [6, 7]. К недостаткам однодоменных антител можно отнести низкую длительность циркуляции. Использование различных модификаций антител, например связывание с человеческим Fc-фрагментом, позволяет улучшить фармакокинетические параметры антитела и обеспечить эффекторные функции

в организме [8, 9]. В связи с этим актуальным представляется создание препарата на основе однодоменных антител для эффективной защиты в отношении BoNT, включающее в себя этапы разработки оптимальной технологии получения препарата высокой чистоты и оценки качества, а также проведения доклинических исследований эффективности препарата.

Ранее авторами было получено однодоменное антитело B11, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека (B11-Fc) [10], а также клеточная линия CHO, стабильно продуцирующая антитело B11-Fc (клон B7). Описанный метод не предусматривал большой объем наработки препарата, в связи с чем потребовалась оптимизация процесса культивирования клона-продуцента и условий очистки антитела B11-Fc, которая проводилась в рамках данной работы.

Цель работы — оптимизация лабораторной технологии получения и доклинические исследования эффективности препарата на основе однодоменного антитела, модифицированного Fc-фрагментом IgG1 человека (B11-Fc), для терапии и экстренной профилактики ботулизма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение однодоменного антитела B11-Fc

Получение модифицированного однодоменного антитела B11-Fc, специфичного к ботулиническому токсину типа A (botulinum neurotoxin type A, BoNT/A), а также клеточной линии, продуцирующей антитело B11-Fc, проводили, как описано ранее [10]. Подбор оптимальных условий культивирования выполняли на основе подхода, описанного ранее [11]. Для проведения культивирования использовали клетки линии CHO, полученной из коллекции ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). Применяли питательные среды SFM4CHO и ActiPro (Cytiva, США), подпитки Cell Boost 5 и Cell Boost 7a/7b (Cytiva, США). Культивирование клеток осуществляли в колбах Эрленмейера различных объемов (Corning, США) при 37 °C, 5% CO₂ и постоянном перемешивании 85–100 об/мин в инкубаторе Multitron (Infors HT, Швейцария). Концентрацию клеток и их выживаемость анализировали с использованием счетчика клеток Cedex HiRes Analyzer

² Здравоохранение в России 2023. Статистический сборник. М.; 2023. <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2023.pdf>

³ https://www.rospotrebnadzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=27998&sphrase_id=5493924

(Roche, Швейцария) в соответствии с инструкцией производителя.

Измерение концентрации антитела в культуральной жидкости на всех стадиях работы проводили с использованием системы биослойной интерферометрии (bio-layer interferometry, BLI) Octet RED96 (ForteBio, США) и биосенсоров Ni-NTA (ForteBio, США) в соответствии с протоколом производителя в режиме кинетического измерения. Метод BLI также использовали для установления равновесных констант диссоциации антитела с Fc-рецепторами. В ходе измерения определяли параметр «Baseline» (в течение 30 с) в кинетическом буфере (150 мМ NaCl, 20 мМ натрия фосфат, натрия азид, pH 7,2), далее белки FcRn, CD16a, CD16b, CD32a, CD32b, γ RI загружали на сенсоры в концентрации 30 мкг/мл (в течение 60 с). Затем VHH-Fc вносили в различных молярных концентрациях (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 0 нМ) в кинетическом буфере на 300 с. Диссоциацию осуществляли в кинетическом буфере в течение 300 с. Анализ полученных данных выполняли с использованием программного обеспечения Octet Data Analysis 10.0 (ForteBio, США).

Хроматографическую очистку антител проводили в несколько стадий с использованием аффинной, анионообменной и мультимодальной хроматографии. Для аффинной хроматографии применяли хроматографическую систему ÄKTA Pure 25 (Cytiva, США) и колонку, содержащую сорбент MabSelect SuRe (Cytiva, США). В качестве связывающего буфера использовали раствор 150 мМ NaCl, 15 мМ Na_2HPO_4 , 5 мМ NaH_2PO_4 , 0,1% полисорбат 80, pH 7,2; в качестве элюирующего – раствор 200 мМ глицина (pH 2,5) с 0,1% полисорбатом 80. Для анионообменной хроматографии применяли колонку Sartobind Q Nano 3 мл (Sartorius, Германия). Очистку проводили в режиме проскока, в качестве буфера использовали раствор 150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 6,8. Дополнительную очистку выполняли с помощью мультимодальной хроматографии с использованием керамического гидроксипатита СНТ Type I (Bio-Rad, США). Для предварительного уравнивания сорбента использовали раствор, содержащий 75 мМ Na_2HPO_4 , 25 мМ NaH_2PO_4 , 6 ppm CaCl_2 , pH 7,5. Далее колонку уравнивали раствором, содержащим 150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 6,8. Затем проводили нанесение образца (pH 6,8) и промывание раствором, содержащим 150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 6,8. Элюирование целевых фракций осуществляли раствором, содержащим 150 мМ NaCl, 15 мМ Na_2HPO_4 , 5 мМ NaH_2PO_4 , pH 7,2.

Очистку препарата от вирусов проводили путем вирусной инактивации и фильтрации. Вирусную инактивацию выполняли после стадии аффинной очистки путем инкубирования фракций антител при комнатной температуре в течение 30 мин в элюирующем буфере (pH 3,0). Далее pH доводили до 7,2–7,4 раствором трис-HCl (1М, pH 9,0). После последней стадии хроматографической очистки антител проводили вирусную фильтрацию с помощью фильтров Virosart HF 200 см² (Sartorius, Германия).

Для концентрирования препарата выполняли тангенциальную фильтрацию с помощью картриджа Hollow Fiber 30 кДа 850 см² (GE Healthcare, США) в буфере 20 мМ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 0,01% полисорбат 80, 150 мМ NaCl, pH 7,2. Далее осуществляли конечную фильтрацию с использованием капсульных фильтров Sartopore 2, 0,2 мкм (Sartorius, Германия).

Степень чистоты образцов препарата антител после очистки анализировали с применением методов электрофореза и ВЭЖХ. Электрофорез в полиакриламидном геле проводили с использованием гелей Mini-Protean TGX Stain-Free Precast Gels (Bio-Rad, США). Денатурацию образцов осуществляли в буфере с 2-меркаптоэтанолом (Sigma, США) при 95 °С в течение 10 мин. ВЭЖХ проводили с использованием системы Vanquish Flex UHPLC Systems (Thermo Scientific, США) и колонки BioSep SEC-s3000 5 мкм (Phenomenex, США) в соответствии со стандартной методикой [12]. Пробу (20 мкл) наносили в изократическом режиме при скорости потока 0,5 мл/мин.

Изучение гликанового профиля осуществляли с помощью ВЭЖХ (колонка Accucore 150 Amide HILIC 2,5 мкм, 150 мм, Thermo Scientific, США) и стандартов гликанов AdvanceBio (Agilent, США).

Измерение размера частиц в растворе выполняли методом динамического светорассеяния с помощью оборудования Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания) в соответствии с инструкцией производителя.

Исследование эффективности препарата однодоменного антитела B11-Fc in vivo

Эксперименты проводили на мышах-самках линии BALB/c (масса 18–20 г), ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России, филиал «Андреевка». Исследования проводились в соответствии с протоколом, утвержденным на заседании биоэтической комиссии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019). Исследования выполняли согласно международным

и национальным требованиям⁴. Перед началом экспериментов предварительно стерилизовали воду, подстилку, корм и клетки. Животных содержали в условиях свободного доступа к корму и воде (*ad libitum*).

Ботулинический токсин типа А получали с помощью культивирования штамма *Clostridium botulinum* A98 и дальнейшей хроматографической очистки, как описано ранее [10].

Предварительно определяли LD₅₀ BoNT/A при внутрибрюшинном (в/б) введении нескольких доз токсина (интервал между дозами – 1,2 раза). На основании установленного значения LD₅₀ рассчитывали дозы в последующих экспериментах. При расчете доз LD₅₀ BoNT/A при внутримышечном (в/м) введении использовали значения доз, соответствующие LD₅₀ для в/б введения.

При моделировании интоксикации BoNT/A клиническую картину у мышей устанавливали при в/б введении, $n=5$, или в/ж введении, $n=10$. Тяжесть токсических признаков оценивали по балльной шкале по следующим признакам: легкое (1 балл) или умеренное (2 балла) абдоминальное дыхание, тяжелое абдоминальное дыхание и/или агональное дыхание (3 балла); слюнотечение и вялость (1 балл), слабость (2 балла) или полный паралич тела (отсутствие рефлексов, 3 балла). Животных, набравших 12 баллов при последовательных наблюдениях, подвергали эвтаназии в случае, если гибель не происходила ранее.

Для исследования протективного действия антитела B11-Fc проводили распределение животных по группам (контрольные, опытные группы, $n=5$). Токсин BoNT/A вводили в/б в дозах 5–100 LD₅₀. Антитело B11-Fc вводили внутримышечно (в/м) в дозах 0,03–1,2 мг/кг.

Для изучения фармакокинетики препарат B11-Fc вводили внутривенно (в/в) в дозе 0,6 мг/кг и оценивали его концентрацию через 1, 4, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336, 504, 672 ч в опытных группах мышей ($n=3$). Определение концентрации B11-Fc в образцах сыворотки крови мышей проводили с использованием набора IgG общий-ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест», Россия).

Для исследования специфической активности антитела B11-Fc распределяли животных по группам (контрольные, опытные группы, $n=10$). Токсин BoNT/A вводили в/б и в/ж в дозах

5 LD₅₀ и 12000 LD₅₀ соответственно. Антитело B11-Fc вводили внутримышечно (в/м) в дозе 0,6 мг/кг.

Статистическая обработка результатов

Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2010, GraphPad Prism 9.0 (США) и ELISA Master («АлкорБио», Россия). Для оценки межгрупповых различий значений титра антител, выживаемости животных и значений исследуемых характеристик использовали критерий Краскела – Уоллиса. Парное сравнение значений в экспериментальных группах с контрольными проводилось с использованием критерия Даннета. Достоверность отличий оценивали с помощью *t*-критерия и логарифмического рангового теста. Минимальный уровень значимости составлял 5% ($p<0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка лабораторной технологии получения препарата однодоменного антитела B11-Fc

Оптимизация процесса культивирования клон-продуцента B7. Подбор условий для оптимизации культивирования клон-продуцента с целью увеличения выхода B11-Fc проводили в колбах Эрленмейера объемом 25 мл. Клетки линии CHO, предварительно адаптированные к питательным средам SFM4CHO или ActiPro, высевали в концентрации $1,0 \times 10^6$ клеток/мл. При достижении плотности более $3,0 \times 10^6$ клеток/мл проводили добавление подпиток CellBoost 5 или CellBoost 7a и 7b по схеме, представленной в таблице 1.

Проведенные исследования показали, что концентрация клеток CHO при использовании среды для культивирования ActiPro по сравнению со средой SFM4CHO была более высокой. При этом в случае применения комбинации среды ActiPro и подпиток CellBoost 7a и 7b показатели концентрации клеток, а также концентрации антитела в среде были максимальными – $14,9 \times 10^6$ клеток/мл и 608 мкг/мл соответственно. В связи с этим данная комбинация среды и подпиток была выбрана для дальнейшего культивирования клон-продуцента антитела B11-Fc.

Достигнутые показатели культивирования коррелировали с данными, полученными авторами ранее [11], что указывает на оптимальные

⁴ ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики.

Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей. ETS N 123. Страсбург; 1986.

Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Таблица 1. Схема культивирования клона-продуцента B7 на различных средах и показатели динамики клеточного роста и продукции антитела B11-Fc

Table 1. Fed-batch culture scheme for the B7 producer clone using various media, with the time course of cell growth and B11-Fc antibody production

Среда / подпитка для культивирования <i>Culture media / feed</i>	Показатель <i>Parameter</i>	Срок культивирования, сут <i>Cultivation time, days</i>								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
SFM4CHO / CellBoost 5	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	3,2	7,2	9,4	9,9	9,9	9,8	9,6	8,8	–
	Выживаемость, % / <i>Viability, %</i>	99	100	100	99	98	96	93	84	–
	Объем подпитки, % / <i>Feed volume, %</i>	4	6	8	10	10	10	8	–	–
	Концентрация антитела, мкг/мл <i>Antibody concentration, µg/mL</i>	9	14	28	66	126	163	219	352	–
ActiPro / CellBoost 5	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	4,1	9,2	13,1	13,4	13,5	13,5	13,3	13,1	11,2
	Выживаемость, % / <i>Viability, %</i>	99	100	100	100	100	99	98	96	85
	Объем подпитки, % / <i>Feed volume, %</i>	4	6	8	10	10	10	8	7	–
	Концентрация антитела, мкг/мл <i>Antibody concentration, µg/mL</i>	7	12	27	67	152	188	256	397	447
SFM4CHO / CellBoost 7a + CellBoost 7b	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	3,2	7,7	9,9	11,1	11,3	11,4	11,2	10,6	8,4
	Выживаемость, % / <i>Viability, %</i>	99	100	100	100	99	97	95	90	83
	Объем подпитки, % / <i>Feed volume, %</i>	1	1	1,5	2	2,5	2,5	2,5	2	–
	Концентрация антитела, мкг/мл <i>Antibody concentration, µg/mL</i>	0,1	0,1	0,15	0,2	0,25	0,25	0,25	0,2	–
	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	7	11	25	51	154	203	331	437	516
ActiPro / CellBoost 7a + CellBoost 7b	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	4,1	10,5	14,6	14,8	14,9	14,8	14,6	13,2	11,9
	Выживаемость, % / <i>Viability, %</i>	99	100	100	99	100	99	97	93	86
	Объем подпитки, % / <i>Feed volume, %</i>	1	1	2	2,5	3	3	2,5	2,5	–
	Концентрация антитела, мкг/мл <i>Antibody concentration, µg/mL</i>	0,1	0,1	0,2	0,25	0,3	0,3	0,25	0,25	–
	Концентрация клеток, клеток/мл <i>Cell concentration, cells/mL</i>	8	13	28	59	181	237	370	534	608

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

свойства среды ActiPro для обеспечения высоких темпов роста клеток и продукции антител.

Оптимизация условий очистки антитела B11-Fc. Культивирование клона-продуцента B7 проводили в соответствии с подобранной схемой в течение 9 сут. Стратегия очистки препарата антител включала в себя несколько этапов: аффинная, анионообменная и мульти-модальная хроматография. На первом этапе очистки антител применяли метод аффинной хроматографии с использованием сорбента MabSelect SuRe. Проводили подбор оптимального состава элюирующего буфера. Было установлено, что при элюировании антител с колонки буфером на основе 20 мМ цитрата натрия (pH 2,8) наблюдалась агрегация антител. При использовании в качестве элюента раствора 200 мМ глицина (pH 2,5) и 0,1% полисорбата 80 агрегация практически отсутствовала,

в связи с чем данный буфер был выбран в качестве элюирующего.

После этапа аффинной хроматографии осуществляли вирусную инактивацию путем выдерживания элюата при pH 3,0 в течение 30 мин.

Следующий этап хроматографической очистки B11-Fc проводили с использованием анионообменной хроматографии на мембранном адсорбере Sartobind Q Nano для удаления остаточных белков и ДНК клеток CHO, а также белка А. После этого этапа очистки выход очищенного антитела составил около 95% от первоначального уровня.

Дополнительный этап хроматографической очистки осуществляли с помощью керамического гидроксиапатита первого типа 40 мкм СНТ Type I. Использование хроматографии данного типа позволило достигнуть высокой чистоты препарата B11-Fc и избавиться от агрегатов

(рис. 1, опубликован на сайте журнала⁵). Выход очищенной фракции антитела составил 85% от исходного уровня.

После финальной стадии очистки проводили вирусную фильтрацию с использованием фильтров Virosart HF 200 см². Концентрирование препарата осуществляли до концентрации 3,0 мг/мл при помощи тангенциальной фильтрации с помощью картриджа Hollow Fiber 30 кДа 850 см². Далее проводили конечную фильтрацию с помощью капсульных фильтров Sartopore 2, 0,2 мкм.

Таким образом, в условиях оптимизации процесса культивирования клона-продуцента B7 удалось повысить выход однодоменного антитела B11-Fc, а разработка схемы многостадийной хроматографической очистки позволила увеличить конечный выход антитела до значений — 500 мкг с 1 мл культуральной жидкости.

Оценка степени чистоты и основных характеристик препарата однодоменного антитела B11-Fc

При оценке содержания примесей в препарате с использованием ВЭЖХ было показано наличие одного целевого пика, который соответствовал мономерной форме антитела B11-Fc (около 99%), а также отсутствовали пики примесных белков (рис. 2).

Определение размера частиц в растворе препарата антител проводили с использованием метода динамического светорассеяния, что позволяет не только определить размер молекул и наличие их олигомеров, но и детектировать более крупные агрегаты частиц, которые не определяются методом электрофореза, а также не могут быть обнаружены методом ВЭЖХ из-за их задержки на префильтрах хроматографической системы. Было показано присутствие одного основного пика, соответствующего молекулам со средним диаметром 7,85 нм, что согласуется со средним размером молекул VHH-Fc (рис. 3).

Изучение гликанового профиля препарата B11-Fc показало, что в зависимости от серии содержание высокоманнозилированных форм (Man5) составляло от 1 до 5% (табл. 2, опубликована на сайте журнала⁶). Указанный уровень значений показателя может свидетельствовать о возможности длительной циркуляции в организме [13]. Низкий уровень содержания высокогалактозилированных форм (G2+G2, 0%) позволяет предположить низкую иммуногенность препарата [14].

Поскольку препарат однодоменного антитела B11-Fc содержит Fc-фрагмент, необходимо изучение его взаимодействия с соответствующими рецепторами для оценки потенциальной роли в иммунологических реакциях [15]. Эти взаимодействия могут воздействовать на некоторые популяции иммунных клеток, а также влиять на поглощение, процессинг и представление антигена. Для изучения функциональной активности Fc-фрагмента проводили анализ взаимодействия с белками человека (FcRn, CD16a, CD16b, CD32a, CD32b, γ RI), являющимися мишенями связывания с Fc-фрагментом человеческих иммуноглобулинов. Было показано, что антитело B11-Fc связывается с Fc-рецепторами человека с высокой аффинностью; значения K_D представлены в таблице 3. Указанные характеристики антител могут способствовать усилению фагоцитарной активности моноцитов и макрофагов [16]. Высокая аффинность B11-Fc к FcRn может свидетельствовать о возможности длительной циркуляции антитела в организме [17].

Исследование эффективности антитела B11-Fc in vivo

Моделирование интоксикации ботулиническим токсином типа А. На первом этапе исследования проводили оценку картины интоксикации при различных способах введения токсина BoNT/A. При в/б введении токсина мышам опытных групп ($n=5$) в дозах 5 или 10 LD₅₀ уже через 3 ч наблюдалась острая картина интоксикации с развитием симптомов умеренной тяжести (7 из 12 баллов) — абдоминальное и агональное дыхание, спазм диафрагмы и прилегающих мышц живота, что соответствовало

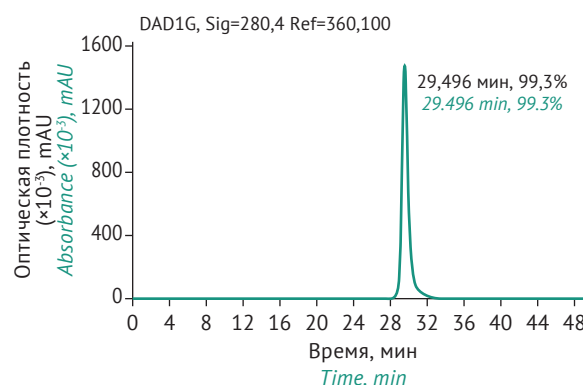


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Оценка чистоты препарата однодоменного антитела B11-Fc методом ВЭЖХ.

Fig. 2. Purity evaluation of the B11-Fc antibody preparation by HPLC.

⁵ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig1>

⁶ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-table2>

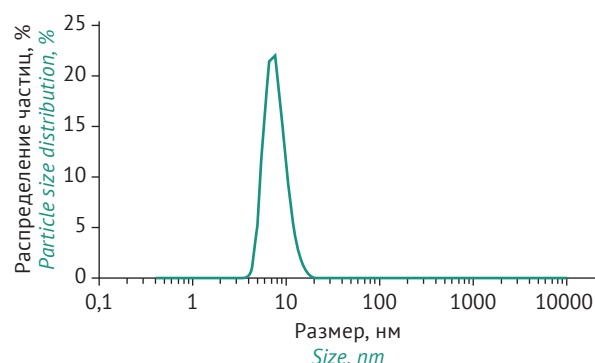


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Оценка размера частиц препарата однодоменного антитела B11-Fc в растворе.

Fig. 3. Particle size evaluation of the B11-Fc single-domain antibody preparation in solution.

литературным данным [18]. Летальность регистрировали спустя 7–8 ч (рис. 4А, опубликован на сайте журнала⁷). Таким образом, при в/б введении токсина картина интоксикации развивалась стремительно, что не вполне соответствует длительности развития токсических симптомов у человека (12–36 ч после воздействия токсина)⁸.

Так как наиболее частой причиной интоксикации у людей являются пищевые отравления, то на следующем этапе работы проводили моделирование интоксикации у мышей ($n=10$) при в/ж введении BoNT/A в дозах 3000, 6000, 12000 и 18000 LD₅₀, выбранных в соответствии с литературными данными [18]. Показано, что при в/ж введении токсина в дозах 12000 и 18000 LD₅₀ летальность регистрировалась через 10 и 24 ч соответственно (рис. 4В, опубликован на сайте журнала⁹). При использовании более низких доз летального эффекта не наблюдали. Для оценки специфической активности антитела B11-Fc на модели интоксикации мышей при в/ж введении BoNT/A была выбрана доза 12000 LD₅₀.

Изучение протективного действия антитела B11-Fc. Для подбора протективной дозы

B11-Fc использовали острую модель интоксикации при в/б введении токсина. При дозе 10 LD₅₀ BoNT/A и последующем незамедлительном в/м введении антитела B11-Fc в различных концентрациях была показана полная защита мышей от летального эффекта токсина при дозах антитела, равных 1,2 и 0,6 мг/кг (рис. 5А). Для дальнейшей работы была выбрана доза антитела 0,6 мг/кг как минимальная для обеспечения полной защиты от летального токсического эффекта BoNT/A.

Для оценки протективного действия антитела B11-Fc в выбранной дозе, мышам опытных групп ($n=5$) вводили (в/б) 5, 10, 20, 50 и 100 LD₅₀ BoNT/A, после чего незамедлительно вводили (в/м) B11-Fc. Был показан 100% протективный эффект антитела B11-Fc при введении токсина в дозах 5, 10 и 20 LD₅₀, 60% – при дозе 50 LD₅₀ и 30% – при дозе 100 LD₅₀ (рис. 5В).

Таким образом, была подобрана оптимальная протективная доза антитела B11-Fc, равная 0,6 мг/кг, обеспечивающая защиту мышей от острой интоксикации BoNT/A.

Ранее авторами было показано, что в отсутствии модификации антитела Fc-фрагментом протективная активность препарата была ниже (>5 мг/кг) [10]. Следовательно, введение Fc-фрагмента приводит к повышению протективной активности, что может быть обусловлено увеличением avidности антитела.

Исследование фармакокинетики антитела B11-Fc. На первом этапе проводили изучение фармакокинетики B11-Fc, определяя концентрацию препарата в сыворотке крови после в/в введения дозы 0,6 мг/кг (рис. 6А). На основе фармакокинетической кривой были рассчитаны основные параметры фармакокинетики: максимальная концентрация, C_{max} – 1,22 мкг/мл; время достижения максимальной концентрации, T_{max} – 1,0 ч; площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время», AUC_{0-t} – 784,55 мкг/мл·ч; период полувыведения, $T_{1/2}$ – 46,4 ч.

Изучение специфической активности антитела B11-Fc в различных режимах применения. Исследование эффективности B11-Fc проводили

Таблица 3. Равновесные константы диссоциации однодоменного антитела B11-Fc с различными Fc-рецепторами человека
Table 3. Equilibrium dissociation constants for the B11-Fc antibody and various human Fc receptors

Показатель Parameter	Fc-рецептор Fc receptor					
	CD16a	CD16b	CD32a	CD32b	FcRn	γRI
K_D , М	$2,3 \times 10^{-8}$	$4,2 \times 10^{-9}$	$4,6 \times 10^{-8}$	$4,5 \times 10^{-8}$	$3,4 \times 10^{-8}$	$2,6 \times 10^{-8}$

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

⁷ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig4>

⁸ Public health response to biological and chemical weapons: WHO guidance. WHO; 2004.

⁹ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig4>

в двух режимах его применения: профилактическом и терапевтическом.

Для оценки профилактического эффекта антитела мышам опытных групп ($n=5$) вводили в/м B11-Fc в дозе 0,6 мг/кг и далее через 7, 14, 21 и 28 сут вводили в/б токсин BoNT/A в дозе 5 LD₅₀. Показано наличие защитного профилактического эффекта B11-Fc при последующем введении токсина на 7, 14 и 21 сут (рис. 6B). Однако защитный эффект отсутствовал в случае введения токсина на 28 сут после применения B11-Fc, так же как и в контрольной группе (без введения B11-Fc).

Таким образом, полная защита мышей сохранялась до 21 сут достигалась при концентрации антитела в крови 0,088 мкг/мл. Полученные данные об эффективности препарата в профилактическом режиме обусловлены, по-видимому, модификацией антитела Fc-фрагментом и увеличением периода его полувыведения, поскольку, как было показано авторами ранее, однодоменное антитело B11 без Fc-фрагмента обладает более низкой протективностью и очень коротким периодом полувыведения (< 1 ч) [10].

Для оценки эффективности антитела B11-Fc в терапевтическом режиме применения мышам опытных групп ($n=10$) вводили в/б токсин BoNT/A в дозе 5 LD₅₀ и затем проводили в/м введение антитела B11-Fc (доза 0,6 мг/кг) через 0, 2, 4 и 6 ч. Было показано наличие защитного терапевтического эффекта B11-Fc при его использовании

одновременно с токсином (временная точка 0 ч) и спустя 2 ч (рис. 7A). В группе с применением B11-Fc через 4 ч после токсического воздействия показана 40% выживаемость мышей, а через 6 ч – защитный эффект отсутствовал.

Для изучения эффективности B11-Fc после в/ж введения токсина (доза 12000 LD₅₀) проводили в/м введение антитела в дозе 0,6 мг/кг через 12, 14, 16, 18 и 20 ч. В контрольной группе мышей (без лечения) умеренные симптомы интоксикации наблюдались через 14 ч, а летальность наступала спустя 24 ч после введения токсина. В группах мышей с введением B11-Fc через 12 и 14 ч после BoNT/A показана 100% выживаемость (рис. 7B). При использовании антитела через 16 и 18 ч выживаемость мышей в группах составила 60 и 50% соответственно. В группе с введением B11-Fc через 20 ч защитный эффект отсутствовал. Таким образом, показана возможность применения антитела B11-Fc для терапии интоксикации, вызванной воздействием токсина BoNT/A при его в/ж введении, до проявления симптомов ботулизма умеренной степени тяжести.

Представленные данные исследования позволяют заключить, что разработанный кандидатный препарат на основе модифицированных однодоменных антител обладает эффективностью в режимах терапии, экстренной профилактики и краткосрочной профилактики в течение 21 сут после введения.

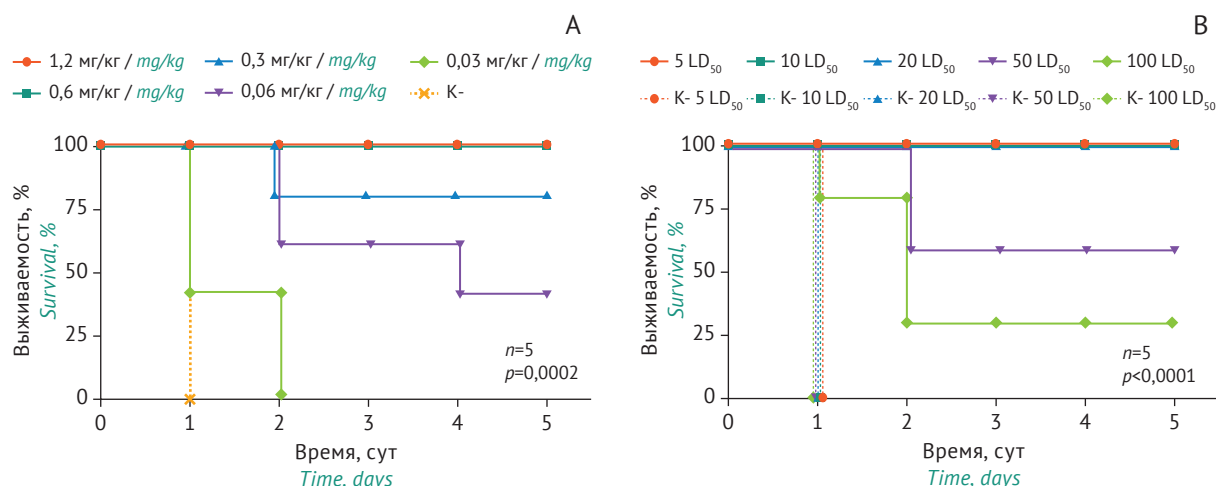


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 5. Динамика выживаемости мышей при внутримышечном (в/м) введении однодоменного антитела B11-Fc в дозах 0,03–1,2 мг/кг с последующим (немедленным) воздействием ботулинического токсина BoNT/A в дозе 10 LD₅₀ (A) и при в/м введении B11-Fc в дозе 0,6 мг/кг мышам, получившим токсин в дозах 5–100 LD₅₀ (B). Пунктиром обозначены данные в контрольных группах мышей (K) с введением токсина, но без введения препарата антитела B11-Fc.

Fig. 5. Survival time course for mice after intramuscular (i.m.) administration of the B11-Fc single-domain antibody at doses of 0.03–1.2 mg/kg followed by (immediate) exposure to botulinum toxin type A (BoNT/A) at a dose of 10 LD₅₀ (A) and after i.m. administration of B11-Fc at a dose of 0.6 mg/kg to mice exposed to BoNT/A at doses of 5–100 LD₅₀ (B). The dotted lines indicate the data for the negative control mice (K-) that received BoNT/A but not B11-Fc.

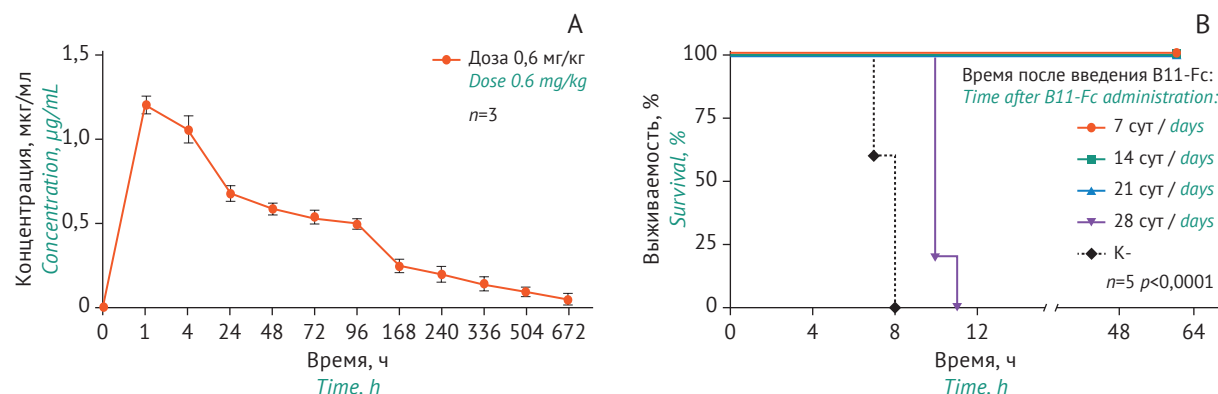


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 6. Динамика изменения концентрации однодоменного антитела B11-Fc в образцах сыворотки крови мышей (А) и динамика выживаемости мышей при использовании B11-Fc в режиме профилактического внутримышечного введения в дозе 0,6 мг/кг с последующим воздействием ботулинического токсина BoNT/A в дозе 5 LD₅₀ через 7, 14, 21 и 28 сут (В). Пунктиром обозначены данные в контрольной группе мышей (К-) с введением токсина, но без введения препарата антитела B11-Fc.

Fig. 6. Time courses of (A) B11-Fc concentration changes in mouse serum samples and (B) mouse survival after intramuscular administration of B11-Fc in the prophylactic mode at a dose of 0.6 mg/kg followed by exposure to botulinum toxin type A (BoNT/A) at a dose of 5 LD₅₀ in 7, 14, 21 and 28 days after the antibody. The dotted line indicates the data for the negative control mice (K-) that received BoNT/A but not B11-Fc.

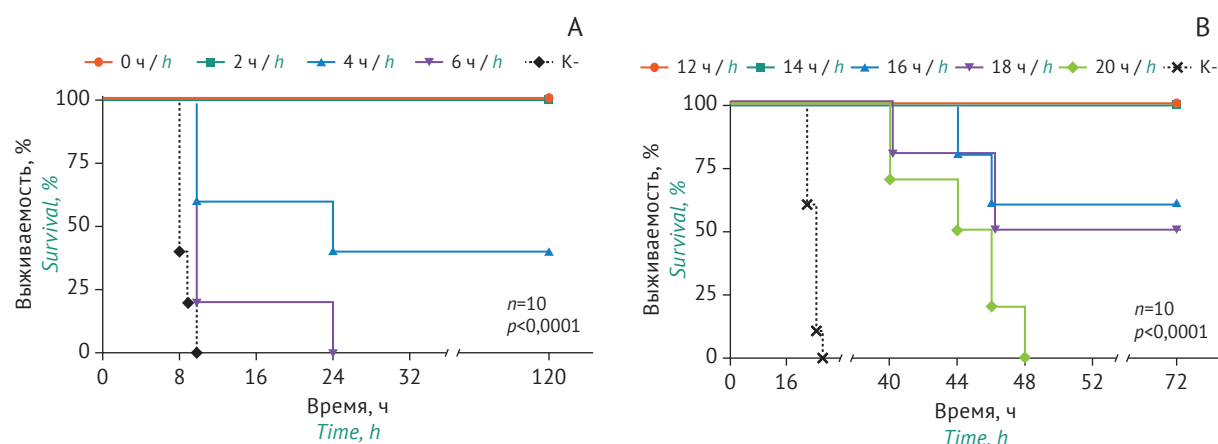


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 7. Динамика выживаемости мышей при использовании однодоменного антитела B11-Fc в режиме терапевтического внутримышечного введения в дозе 0,6 мг/кг через 0–6 ч после внутрибрюшинного введения ботулинического токсина BoNT/A в дозе 5 LD₅₀ (А) и через 12–20 ч после внутрижелудочного введения токсина в дозе 12000 LD₅₀ (В). Пунктиром обозначены данные в контрольной группе мышей (К-) с введением токсина, но без введения препарата антитела B11-Fc.

Fig. 7. Time course of mouse survival after intramuscular administration of B11-Fc in the prophylactic mode at a dose of 0.6 mg/kg followed by (A) intraperitoneal administration of botulinum toxin type A (BoNT/A) at a dose of 5 LD₅₀ in 0–6 h after the antibody or (B) intragastric administration of BoNT/A at a dose of 12,000 LD₅₀ in 12–20 h after the antibody. The dotted lines indicate the data for the negative control mice (K-) that received BoNT/A but not B11-Fc.

ВЫВОДЫ

1. Проведена оптимизация условий культивирования клона-продуцента В7 и хроматографической очистки для получения кандидатного препарата для терапии ботулизма на основе модифицированного однодоменного антитела B11-Fc. Выход антител составил 0,5 г/л; степень чистоты – более 99%.
2. Изучение гликанового профиля B11-Fc показало содержание высокоманнозилированных форм от 1 до 5%, высокогалактозилированных

форм – 0%. Средний размер частиц в растворе препарата – 7,85 нм.

3. Показана функциональная активность Fc-фрагмента препарата антитела, реализуемая за счет связывания с высокой аффинностью с различными типами Fc-рецепторов человека (FcRn, CD16a, CD16b, CD32a, CD32b, γRI).
4. Продемонстрирована эффективность препарата B11-Fc на различных моделях интоксикации мышей ботулиническим токсином BoNT/A – при внутрибрюшинном и внутриже-

лудочном введении, а также при разных режимах применения препарата — в профилактическом и терапевтическом.

5. Рассчитаны основные параметры фармакокинетики B11-Fc у мышей: $C_{\max}$ — 1,22 мкг/мл, $T_{\max}$ — 1,0 ч, AUC_{0-t} — 784,55 мкг/мл×ч, $T_{1/2}$ — 46,4 ч. Концентрация антител, обеспечивающая защиту от 5 LD₅₀ ботулотоксина, составила 0,088 мкг/мл.
6. Показан защитный эффект препарата B11-Fc в дозе 0,6 мг/кг при использовании для краткосрочной (до 21 сут) профилактики ботулизма (при в/б введении мышам токсина в дозе

5 LD₅₀), что достигается благодаря наличию у однодоменного антитела Fc-фрагмента.

7. Применение препарата B11-Fc в дозе 0,6 мг/кг эффективно для экстренной профилактики интоксикации и терапии пищевого ботулизма (при в/ж введении мышам токсина в дозе 12000 LD₅₀) до проявления симптомов средней тяжести.
8. Полученные результаты доклинических исследований кандидатного препарата на основе модифицированных однодоменных антител позволили перейти к проведению фазы I клинических исследований для оценки безопасности и переносимости препарата на здоровых добровольцах.

Литература/References

1. Fleck-Derderian S, Shankar M, Rao AK, Chatham-Stephens K, Adjei S, Sobel J, et al. The epidemiology of foodborne botulism outbreaks: A systematic review. *Clin Infect Dis*. 2018;66(1):S73–S81. <https://doi.org/10.1093/cid/cix846>
2. Black RE, Gunn RA. Hypersensitivity reactions associated with botulinum antitoxin. *Am J Med*. 1980;69(4):567–70. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(80\)90469-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(80)90469-6)
3. Anniballi F, Lonati D, Fiore A, Auricchio B, De Medici D, Locatelli CA. New targets in the search for preventive and therapeutic agents for botulism. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014;12(9):1075–86. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.945917>
4. Rossetto O, Pirazzini M, Lista F, Montecucco C. The role of the single interchain disulfide bond in tetanus and botulinum neurotoxins and the development of antitetanus and antibotulism drugs. *Cell Microbiol*. 2019;21(11):e13037. <https://doi.org/10.1111/cmi.13037>
5. Shcheblyakov D, Esmagambetov I, Simakin P, Kostina L, Kozlov A, Tsibezov V. Development and characterization of two GP-specific monoclonal antibodies, which synergistically protect non-human primates against Ebola lethal infection. *Antiviral Res*. 2019;172:104617. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104617>
6. Muyldermans S, Cambillau C, Wyns L. Recognition of antigens by single-domain antibody fragments: The superfluous luxury of paired domains. *Trends Biochem Sci*. 2001;26(4):230–5. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(01\)01790-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(01)01790-X)
7. Есмагамбетов ИБ, Щебляков ДВ, Егорова ДА, Воронина ОЛ, Деркаев АА, Воронина ДВ и др. Нанокантитела — потенциальный терапевтический препарат против лихорадки Эбола. *Acta Naturae*. 2021;13(4):53–63. Esmagambetov IB, Shcheblyakov DV, Egorova DA, Voronina OL, Derkaev AA, Voronina DV, et al. Nanobodies are potential therapeutic agents for the Ebola virus infection. *Acta Naturae*. 2021;13(4):53–63 (In Russ.). <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11487>
8. Kontermann RE. Strategies to extend plasma half-lives of recombinant antibodies. *BioDrugs*. 2009;23(2):93–109. <https://doi.org/10.2165/00063030-200923020-00003>
9. Danquah W, Danquah W, Meyer-Schwesinger C, Rissiek B, Pinto C, Serracant-Prat A, Amadi M, et al. Nanobodies that block gating of the P2X7 ion channel ameliorate inflammation. *Sci Transl Med*. 2016;8(366):366ra162. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf8463>
10. Godakova SA, Noskov AN, Vinogradova ID, Ugriumova GA, Solov'yev AI, Esmagambetov IB, et al. Camelid VHHs fused to human Fc fragments provide long term protection against botulinum neurotoxin A in mice. *Toxins (Basel)*. 2019;11(8):464. <https://doi.org/10.3390/toxins11080464>
11. Полянский ДС, Рябова ЕИ, Деркаев АА, Старков НС, Кашапова ИС, Есмагамбетов ИБ. Разработка технологии культивирования клеточной линии, продуцирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом IgG1 человека. *Тонкие химические технологии*. 2024;19(3):240–57. Polyansky DS, Ryabova EI, Derkaev AA, Starkov NS, Kashapova IS, Shcheblyakov DV, Karpov AP, Esmagambetov IB. Development of technology for culturing a cell line producing a single-domain antibody fused with the Fc fragment of human IgG1. *Fine Chemical Technologies*. 2024;19(3):240–57 (In Russ.). <https://doi.org/10.32362/2410-6593-2024-19-3-240-257>
12. Mant CT, Chen Y, Yan Z, Popa TV, Kovacs JM, Mills JB, et al. HPLC analysis and purification of peptides. *Methods Mol Biol*. 2007;386:3–55. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-430-8_1
13. Keck R, Nayak N, Lerner L, Raju S, Ma S, Schreitmüller T, et al. Characterization of a complex glycoprotein whose variable metabolic clearance in humans is dependent on terminal N-acetylglucosamine content. *Biologicals*. 2008;36(1):49–60. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2007.05.004>
14. Newkirk MM, Novick J, Stevenson MM, Fournier MJ, Apostolakis P. Differential clearance of glycoforms of IgG in normal and autoimmune-prone mice. *Clin Exp Immunol*. 1996;106(2):259–64. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2249.1996.d01-847.x>
15. Beck A, Haewu JF, Wurch T, Goetsch L, Bailly C, Corvaia N. The next generation of antibody-drug conjugates comes of age. *Discov Med*. 2010;10(53):329–39.
16. Jiang XR, Song A, Bergelson S, Arroll T, Parekh B, May K, et al. Advances in the assessment and control of the effector functions of therapeutic antibodies. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10(2):101–11. <https://doi.org/10.1038/nrd3365>
17. Reichert JM. Antibody-based therapeutics to watch in 2011. *MAbs*. 2011;3(1):76–99. <https://doi.org/10.4161/mabs.3.1.13895>
18. Rossetto O, Montecucco C. Tables of toxicity of botulinum and tetanus neurotoxins. *Toxins (Basel)*. 2019;11(12):686. <https://doi.org/10.3390/toxins11120686>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещены рисунки 1, 4 и таблица 2.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig1>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig4>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-table2>

Additional information. Figure 1, Figure 4, and Table 2 are published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig1>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-fig4>
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-591-table2>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.А. Деркаев** — получение клона-продуцента антитела B11-Fc, анализ качества препарата, проведение биослойной интерферометрии, исследование эффективности препарата *in vivo*, интерпретация результатов, написание текста рукописи; **Е.И. Рябова** — оптимизация условий культивирования клона-продуцента, анализ качества препарата, исследование эффективности препарата; **И.Б. Есмагамбетов** — концепция и дизайн исследования, интерпретация результатов, редактирование текста рукописи; **Д.В. Щебляков** — дизайн генетической конструкции, экспрессирующей однодоменное антитело, слитое с Fc-фрагментом, руководство исследованиями; **А.Н. Носков** — концепция исследования, получение и очистка ботулинического токсина А; **И.Д. Виноградова** — концепция исследования, изучение активности токсина; **В.В. Прокофьев** — оптимизация хроматографической очистки антитела, анализ качества препарата; **Д.С. Полянский** — культивирование клона-продуцента, оптимизация условий культивирования; **Д.Ю. Логунов, А.Л. Гинцбург** — руководство исследованиями, окончательное утверждение версии статьи для публикации.

Соответствие принципам этики. Исследования проводились в соответствии с протоколом, утвержденным на заседании биоэтической комиссии ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (протокол № 16 от 08.02.2019).

Благодарности. Коллектив авторов выражает благодарность коллегам из ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, оказавшим помощь в выполнении исследования.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.A. Derkaev** obtained a stable B11-Fc antibody producer clone, analysed the quality of the preparation, performed bio-layer interferometry, studied the efficacy of the preparation *in vivo*, interpreted the results, and drafted the manuscript. **E.I. Ryabova** optimised culture conditions for producer clone generation, analysed the quality of the preparation, and studied the efficacy of the preparation. **I.B. Esmagambetov** conceptualised and designed the study, interpreted the results, and edited the manuscript. **D.V. Shcheblyakov** designed the genetic construct expressing the Fc-fused single-domain antibody, and managed the experiments. **A.N. Noskov** conceptualised the study and produced and purified botulinum toxin A. **I.D. Vinogradova** conceptualised the study and studied the activity of the toxin. **V.V. Prokofiev** optimised chromatographic purification of the antibody and analysed the quality of the preparation. **D.S. Polyansky** generated the producer clone and optimised culture conditions for producer clone generation. **D.Y. Logunov** and **A.L. Gintsburg** managed the experiments and approved the final version of the manuscript for publication.

Ethics approval. The study was approved by the Bioethics Committee, National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 16 of 8 February 2019).

Acknowledgements. The authors express gratitude to their colleagues at the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya for assistance with the study.

Об авторах / Authors

Деркаев Артем Алексеевич / Artem A. Derkaev

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3776-3856>

Рябова Екатерина Игоревна / Ekaterina I. Ryabova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2687-5185>

Есмагамбетов Ильяс Булатович, канд. биол. наук / Ilias B. Esmagambetov, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2063-2449>

Щебляков Дмитрий Викторович, канд. биол. наук / Dmitry V. Shcheblyakov, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1289-3411>

Носков Анатолий Николаевич, д-р биол. наук / Anatoly N. Noskov, Dr. Sci. (Biol.)

Виноградова Ирина Дмитриевна, канд. биол. наук / Irina D. Vinogradova, Cand. Sci. (Biol.)

Прокофьев Владимир Владимирович / Vladimir V. Prokofiev

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4130-177X>

Полянский Дмитрий Сергеевич / Dmitry S. Polyansky

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0792-7063>

Логунов Денис Юрьевич, д-р биол. наук, академик РАН / Denis Y. Logunov, Dr. Sci. (Biol.), Acad. RAS

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4035-6581>

Гинцбург Александр Леонидович, д-р биол. наук, проф., академик РАН / Alexander L. Gintsburg, Dr. Sci. (Biol.), Prof., Acad. RAS

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1769-5059>

Поступила 28.05.2024

После доработки 05.11.2024

Принята к публикации 23.12.2024

Online first 07.02.2025

Received 28 May 2024

Revised 5 November 2024

Accepted 23 December 2024

Online first 7 February 2025

УДК 615.11:615.07

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82>

Обзор | Review



Фармакопейная стандартизация биологических лекарственных препаратов: основные принципы в условиях единого фармацевтического рынка стран Евразийского экономического союза

О.Г. Корнилова[✉], В.Л. Багирова

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

✉ Корнилова Ольга Геннадьевна; kornilova@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Совершенствование технологий производства, расширение спектра биологических лекарственных препаратов (БЛП) и показаний к их применению обуславливают необходимость формирования единого подхода к их стандартизации в рамках как Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ), так и региональной фармакопеи — Фармакопеи Евразийского экономического союза (Фармакопея Союза). В условиях единого фармацевтического рынка стран Евразийского экономического союза (ЕАЭС) требования к лекарственным препаратам должны учитывать национальные фармакопейные стандарты качества, которые, в свою очередь, подвергаются пересмотру с целью гармонизации с Фармакопеей Союза.

ЦЕЛЬ. Систематизация требований к биологическим лекарственным препаратам в рамках Фармакопеи Союза и Государственной фармакопеи Российской Федерации для гармонизации региональных и национальных стандартов.

ОБСУЖДЕНИЕ. Проведен анализ особенностей стандартизации БЛП в фармакопеях государств — членов ЕАЭС, а также требований ведущих мировых фармакопей и международных нормативных документов, в том числе Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (ICH). Установлены основные принципы формирования требований к БЛП в рамках Фармакопеи Союза и подготовлен проект общей фармакопейной статьи (ОФС) «Биологические лекарственные препараты». В данной ОФС унифицировано определение понятия «биологические лекарственные препараты» с учетом региональных и российских законодательных актов; проведена фармакопейная стандартизация требований к различным группам БЛП; выделены основные аспекты, требующие рассмотрения в рамках производства (технологии), контроля качества промежуточных продуктов и лекарственного препарата. В процессе гармонизации ГФ РФ с требованиями Фармакопеи Союза представлены основные подходы к стандартизации БЛП в ГФ РФ и внесены изменения в ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты», в том числе в части исключения требований к производству, которые не являются общими для всех БЛП, а также исключения перечня испытаний фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Систематизированы требования к БЛП с учетом мировых и региональных нормативных документов. Подготовлен проект ОФС «Биологические лекарственные препараты» для Фармакопеи Союза и на его основе актуализирована ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты». Обоснованы подходы к формированию фармакопейных статей и общих фармакопейных статей, касающихся требований к различным группам БЛП.

© О.Г. Корнилова, В.Л. Багирова, 2025

Ключевые слова: фармакопейные требования; гармонизация; биологические лекарственные препараты; стандартизация; общая фармакопейная статья; фармакопейная статья; биологические испытания *in vivo*; биологические испытания *in vitro*

Для цитирования: Корнилова О.Г., Багирова В.Л. Фармакопейная стандартизация биологических лекарственных препаратов: основные принципы в условиях единого фармацевтического рынка стран Евразийского экономического союза. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):71–82. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200096-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Pharmacopoeial standardisation of biological medicinal products: Basic principles for the common pharmaceutical market of the Eurasian Economic Union

Olga G. Kornilova✉, Valeria L. Bagirova

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

✉ Olga G. Kornilova; kornilova@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The advancement of manufacturing technologies and the expanding range of biological medicinal products (BMPs) and indications for their use necessitate the development of a unified approach to BMP standardisation at both national and regional levels. In the context of the common pharmaceutical market of the EAEU (EAEU), the requirements for medicinal products should take into account the national pharmacopoeial quality standards, which, in turn, are subject to harmonisation with regional pharmacopoeial standards.

AIM. This study aimed to systematise the requirements for BMPs of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and the Pharmacopoeia of the EAEU to achieve harmonisation of the national and regional standards.

DISCUSSION. This study analysed special considerations for BMP standardisation in accordance with the national pharmacopoeias of the EAEU Member States. In addition, the study covered the requirements of major international pharmacopoeias and regulatory documents, including those by the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Having established the basic principles for formulating the requirements for BMPs within the scope of the Pharmacopoeia of the EAEU, the authors drafted a general chapter for BMPs for the Pharmacopoeia of the EAEU. This draft general chapter introduced a uniform definition of BMPs, taking into account regional and national legislation. The general chapter standardised compendial requirements for different groups of BMPs, highlighting the main considerations for the production (technology) and quality control of intermediates and finished medicinal products. When harmonising the State Pharmacopoeia of the Russian Federation with the requirements of the Pharmacopoeia of the EAEU, the authors outlined the main approaches to BMP standardisation applied by the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and made amendments to General Chapter 1.7.1.0010.18 Biological medicinal products of the national pharmacopoeia. In particular, the authors removed the requirements for BMP production that were not universally applicable to all BMPs, along with the lists of mandatory tests for active pharmaceutical substances and finished medicinal products.

CONCLUSIONS. The study systematised the requirements for BMPs outlined in international and regional regulatory documents. The authors drafted the general chapter for BMPs for the Pharmacopoeia of the EAEU and used it in updating General Chapter 1.7.1.0010.18 Bio-

logical medicinal products of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. The study also substantiated the approaches to drafting compendial texts (general chapters and monographs) for BMPs.

Keywords: pharmacopoeial requirements; harmonisation; biological medicinal products; standardisation; general chapter; general monograph; monograph; *in vivo* bioassay; *in vitro* bioassay

For citation: Kornilova O.G., Bagirova V.L. Pharmacopoeial standardisation of biological medicinal products: Basic principles for the common pharmaceutical market of the Eurasian Economic Union. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):72–82. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-72-82>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under state assignment No. 056-00001-25-00 (R&D registry No. 124022200096-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Биологические лекарственные препараты (БЛП) представляют собой разнообразную группу лекарственных препаратов, получаемых из биологических источников. Современные методы лечения, такие как иммунотерапия с использованием моноклональных антител и клеточная терапия, способствовали росту спроса на биотехнологические и высокотехнологичные лекарственные препараты [1, 2]. Применение биотехнологических подходов позволяет разрабатывать персонализированные стратегии лечения, основанные на уникальных генетических профилях конкретных пациентов или подтипах заболеваний. Несмотря на высокие производственные затраты и строгие регуляторные требования, мировой рынок БЛП в 2023 г. достиг уровня в 580 млрд долларов США¹. Прогнозируемый среднегодовой рост рынка в последующие восемь лет составит 6%².

Постоянное совершенствование технологий производства, расширение спектра БЛП и показаний к их применению обуславливают необходимость формирования единого подхода к их стандартизации в рамках как национальной фармакопеи — Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ), так и региональной фармакопеи — Фармакопеи Евразийского экономического союза (Фармакопея Союза) [1, 2]. Соглашение о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств (ЛС) в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС), ратифицированное Российской Федерацией

в 2016 г.³, предусматривает проведение скоординированной политики в сфере обращения ЛС в первую очередь в целях обеспечения их качества, гарантирующего эффективность и безопасность при применении. Единство требований к качеству ЛС на территории государств — членов ЕАЭС возможно только при наличии единого подхода [3]. Такой подход может быть реализован путем формирования общих фармакопейных стандартов качества на ЛС и последовательной гармонизацией фармакопейных статей (общих и частных) национальных фармакопей государств — членов ЕАЭС⁴.

В соответствии с Концепцией гармонизации фармакопей государств — членов ЕАЭС⁵ в качестве базовой (основной фармакопеи первого уровня) признана Европейская фармакопея, а статусом фармакопеи второго уровня обладают Британская фармакопея и Фармакопея США. Подготовка фармакопейных текстов для Фармакопеи Союза осуществляется исходя изданного положения. Важно отметить, что ГФ РФ по принципу формирования стандартов на БЛП значительно отличается как от Европейской фармакопеи, так и от национальных фармакопей государств — членов ЕАЭС. Формирование единых подходов к разработке соответствующих фармакопейных текстов (общих фармакопейных статей (ОФС) и фармакопейных статей (ФС)) представляет собой актуальную задачу. В статье отражены основные этапы работы, проведенной авторами, по фармакопейной стандартизации БЛП в рамках Фармакопеи Союза и ГФ РФ.

¹ [Global Biologics Market Report](#). Value Market Research; 2024.

² [Global Biopharmaceuticals Market Size, Share, and Trends Analysis Report — Industry Overview and Forecast to 2031](#). Data Bridge Market Research; 2025.

³ Федеральный закон от 25.10.2016 № 5-ФЗ «О ратификации соглашения о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза».

⁴ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.09.2015 № 119 «О Концепции гармонизации фармакопей государств — членов Евразийского экономического союза».

⁵ Там же.

Цель работы — систематизация требований к БЛП в рамках Фармакопеи Союза и ГФ РФ для гармонизации региональных и национальных стандартов.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Стандартизация биологических лекарственных препаратов в фармакопеях государств — членов Евразийского экономического союза

Фармацевтические рынки на территории государств — членов ЕАЭС имеют национальные особенности, особенно заметные в подходах к формированию фармакопейных требований к БЛП. Так, Государственная фармакопея Республики Казахстан⁶, изданная с разрешения Европейского директората по качеству лекарственных средств и здравоохранения Совета Европы (European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare, Council of Europe), включает фармакопейные тексты, основанные на текущем издании Европейской фармакопеи, а также учитывает основные принципы гармонизации с Фармакопеей США и Британской фармакопеей [4]. В нее включены 6 общих статей на группы иммунобиологических лекарственных препаратов (ИБЛП), а также 15 монографий на вакцины и ЛС из плазмы крови человека.

В Государственной фармакопее Республики Беларусь⁷ (ГФ РБ), которая также разработана на основе Европейской фармакопеи, широко

представлены ОФС, касающиеся требований к БЛП и методам их контроля. Однако для ГФ РБ характерно также наличие дополнительных статей в соответствии с национальными подходами к стандартизации БЛП, например по определению биологической активности инсулина в испытаниях на животных⁸.

ГФ РФ в значительной степени сохранила преемственность требований к БЛП, методам их контроля и биологическим испытаниям, установленным ранее в Государственной фармакопее СССР. Методы контроля качества БЛП в течение десятилетий были регламентированы различными методическими указаниями, а также ФС на физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских ИБЛП⁹ и ФС на соответствующие лекарственные препараты. В ГФ РФ XIII изд. дополнительно были включены ОФС, касающиеся требований к группам БЛП и методов их контроля, а также ФС на конкретные БЛП [5, 6]. В ГФ РФ XIV изд. этот перечень был значительно расширен.

Фармакопейные стандарты представлены 25 ОФС на группы БЛП (рис. 1), которые характеризуются многократным дублированием нормативных требований. Например, ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты» содержит требования к ИБЛП и биотехнологическим лекарственным препаратам, которые повторно встречаются в ОФС.1.7.1.0018.18

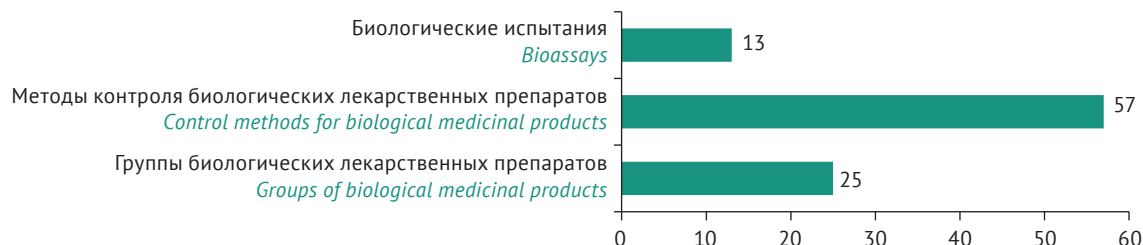


Рисунок подготовлен авторами / The figure is prepared by the authors

Рис. 1. Количество общих фармакопейных статей на биологические лекарственные препараты и методы их контроля в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд.

Fig. 1. Number of general chapters for biological medicinal products and methods for their control in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14 th ed.

⁶ Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 1. Алматы: Издательский дом «Жибек жолы»; 2008.

Государственная фармакопея Республики Казахстан. Т. 2. Алматы: Издательский дом «Жибек жолы»; 2009.

⁷ Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 1. Общие методы контроля лекарственных средств. Министерство здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; Шерякова АА, ред. Молодечно: Типография Победа; 2012.

Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 2 т. Т. 2. Контроль качества субстанций для фармацевтического использования и лекарственного растительного сырья. Министерство здравоохранения Республики Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении». Марченко СИ, ред. Молодечно: Типография Победа; 2016.

⁸ ОФС.2.7.50 Определение биологической активности инсулина. Государственная фармакопея Республики Беларусь. Т. 2; 2016.

⁹ ФС.42-344ВС-90 Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов. М.: Типография Министерства здравоохранения СССР; 1990.

ФС.42-3874-99 Физико-химические, химические, физические и иммунохимические методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов. М.: Типография Министерства здравоохранения РФ; 2000.

«Иммунобиологические лекарственные препараты» и ОФС.1.7.1.0011.18 «Биотехнологические лекарственные препараты». Такой подход в формировании стандартов качества на БЛП с одной стороны акцентирует внимание на ключевых требованиях к БЛП, с другой стороны делает фармакопейные тексты объемными и инертными в плане своевременной актуализации.

В рамках фармакопейной стандартизации ИБЛП, препаратов из плазмы крови человека, пробиотиков, бактериофагов и ряда других БЛП в ГФ РФ XIV изд. включено 100 ФС (рис. S1, опубликован на сайте журнала, <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s1>). Часть из них, например на лекарственные препараты пробиотиков, бактериофагов, пирогенал, не имеют аналогов в ведущих мировых фармакопеях, тогда как другие представляют собой фармакопейные стандарты, негармонизированные с аналогичными в других фармакопеях. Эти стандарты могут отличаться как в сторону ужесточения требований (например, наличие дополнительных показателей качества), так и в сторону их ослабления (менее жесткие нормы, отсутствие необходимых показателей качества).

Подходы к стандартизации биологических лекарственных препаратов в рамках национальных и региональных фармакопей

В мировой фармакопейной практике определение и классификация БЛП неоднозначны и представлены лишь в немногих фармакопеях. Так, Фармакопея США определяет БЛП как «любой вирус, терапевтическая сыворотка, токсин, анти毒素, или другой аналогичный продукт, который может использоваться для профилактики и лечения заболеваний или травм у людей¹⁰», производимый по лицензии в соответствии с законодательством США (Свод законов США)¹¹. В фармакопейных целях¹² термин «биологические препараты» применим к лекарственным препаратам, лицензированным в соответствии со Сводом законов США¹³ и удовлетворяющим требованиям Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA)¹⁴. Свод законов США устанавливает следующий перечень БЛП¹⁵:

- этиологический фактор инфекционных заболеваний (вирусы, бактерии, риккетсии, грибы, простейшие), а также аналогичные препараты, произведенные из вирусов, или микроорганизмов, или простейших, которые, потенциально являются инфекционными, независимо от степени вирулентности или токсикогенности используемого штамма;
- терапевтические сыворотки (препараты, получаемые из крови путем удаления сгустка или компонентов сгустка и клеток крови), а также аналогичные препараты, состоящие из цельной крови или плазмы, или содержащие компонент крови, плазмы или сыворотки, отличный от гормона или аминокислоты;
- токсины (ядовитое в дозе 1 мл или менее для лабораторных животных или человека вещество, обладающее способностью стимулировать выработку нейтрализующих антитоксических антител при введении нелетальных доз);
- антитоксины (препараты из сыворотки крови животных, содержащие антитела, которые специфически нейтрализуют токсин, против которого у животного есть иммунитет), а также аналогичные препараты, которые независимо от источника происхождения предназначены для применения в целях профилактики или лечения заболеваний или травм человека посредством специфического иммунного процесса;
- вакцины;
- кровь, компоненты крови или производное крови;
- аллергенные продукты;
- белки (любые полимеры альфа-аминокислот с определенной последовательностью, которая имеет длину более 40 аминокислотных остатков);
- трехвалентные органические соединения (арсфенамин и его производные)¹⁶.

Согласно Китайской фармакопее¹⁷ к профилактическим биологическим продуктам относятся бактериальные и вирусные вакцины, а к терапевтическим – антитоксины и антисыворотки, продукты крови, биотехнологические продукты. В фармакопее Таиланда¹⁸ БЛП определяются как продукты биологического происхождения, включая продукты животного, бактериального или растительного происхождения (вакцины, диагностические препараты), а также

¹⁰ <1041> Biologics. United State Pharmacopeia; 2024.

¹¹ Public Health Service Act, 42 US Code, Chapter 6A; 2015.

¹² <1041> Biologics. United State Pharmacopeia; 2024.

¹³ Public Health Service Act, 42 US Code, Chapter 6A; 2015.

¹⁴ Code of Federal Regulations, Title 21, Parts 600–680.

¹⁵ Public Health Service Act, 42 US Code, Chapter 6A; 2015.

¹⁶ Code of Federal Regulations, Title 21, Chapter I, Subchapter F, Part 600, Subpart A, § 600.3.

¹⁷ General Notices. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. Vol. 3; 2020.

¹⁸ <https://www.bdn.go.th/tp/ebook/qQycAKtmpR9gC3q0GT5gMJqQqT5co3uw>

животного или человеческого происхождения (антисыворотки, препараты крови), эффективность и безопасность которых невозможно оценить исключительно химическими или физическими методами испытаний.

Международная фармакопея не использует термин «биологические лекарственные препараты», однако Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) классифицирует БЛП как ЛС, получаемые путем культивирования и последующей очистки из клеточных культур бактерий, дрожжей или животных клеток. К этой группе относятся вакцины, факторы роста, иммуномодуляторы, моноклональные антитела, а также продукты, полученные из крови и плазмы крови человека¹⁹. Контроль качества и регулирование обращения БЛП отличаются от аналогичных процессов для других групп лекарственных препаратов из-за особенностей их природы и способов производства. Каждая серия БЛП подвергается строгому контролю на каждом этапе производства, обеспечивая соответствие предыдущим сериям. Применение стандартных образцов (СО) соответствующей квалификации (международных, фармакопейных) дополнительно гарантирует стабильность качества в рамках одного производства между сериями, а также позволяет сравнивать БЛП разных производителей и стран²⁰. Установление универсальных требований к исходному сырью, материалам, процессам производства, а также к качеству конечного продукта играет важную роль в обеспечении эффективности и безопасности БЛП²¹.

Основные принципы стандартизации биологических лекарственных препаратов в рамках Фармакопеи Евразийского экономического союза

Обоснование общих понятий и положений для биологических лекарственных препаратов

Разработка проекта ОФС, касающегося требований к БЛП, в рамках Фармакопеи Союза, в первую очередь основывалась на принципах гармонизации с учетом национальных особенностей ГФ РФ как единственной фармакопеи среди государств – членов ЕАЭС, содержащей обширный перечень стандартов

качества на БЛП, включая ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты»²². В то же время национальное законодательство Российской Федерации значительно отличается от регионального (ЕАЭС) в части определения понятия «биологический лекарственный препарат». Так, согласно статье 4 Федерального закона № 61-ФЗ²³ для БЛП установлены два основных признака: наличие биологического источника для производства или выделения, а также использование для контроля качества комбинации биологических и физико-химических методов. В Правилах проведения исследований биологических лекарственных средств ЕАЭС²⁴ определение БЛП дополнено необходимостью оценки производственного процесса и методов его контроля. В фармакопейных целях в рамках ЕАЭС к БЛП отнесены лекарственные препараты, действующее (активное) вещество которых произведено или выделено из биологического источника, и для характеристики их свойств обычно применяют комплекс биологических и физико-химических методов анализа совместно с оценкой производственного процесса и методов его контроля.

С целью устранения несоответствий с национальным законодательством, а также различий в классификации БЛП в проекте ОФС «Биологические лекарственные препараты» нами предложен подход к группированию этих лекарственных препаратов по различным классификационным признакам:

- по влиянию на иммунитет (например, иммунологические (иммунобиологические) лекарственные препараты);
- по способу получения (например, биотехнологические лекарственные препараты, высокотехнологичные лекарственные препараты);
- лекарственные препараты из крови человека и плазмы крови человека (например, лекарственные препараты факторов свертывания крови человека);
- лекарственные препараты, содержащие в качестве активных фармацевтических субстанций живые микроорганизмы (например, лекарственные препараты пробиотиков) или живые вирусы (например, лекарственные препараты бактериофагов);

¹⁹ WHO Good manufacturing practices for biological products. Proposed replacement of Technical report series No. 822, Annex 1. WHO; 2015.

²⁰ https://www.who.int/health-topics/biologicals#tab=tab_1

²¹ Там же.

²² ОФС.1.7.1.0010.18 Биологические лекарственные препараты. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

²³ Федеральный закон от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

²⁴ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

– лекарственные препараты, содержащие активные фармацевтические субстанции не-рекомбинантного происхождения, произведенные или выделенные из биологических источников (тканей, жидкостей и органов человека, сырья животного происхождения, микроорганизмов или продуктов их жизнедеятельности).

Различные подходы к стандартизации лекарственных препаратов антибиотиков природного и полусинтетического происхождения²⁵ обусловили решение не включать их в группу БЛП в рамках Фармакопеи Союза, несмотря на получение путем ферментации (с возможной последующей химической модификацией). Кроме того, на препараты из крови, плазмы и клеток крови человека (за исключением плазмы крови человека, приготовленной по методу, включающему промышленный процесс) не распространяются требования фармакопейных стандартов; для них действуют иные регуляторные акты в рамках национального законодательства.

Формирование общих требований к производству биологических лекарственных препаратов

Выбор объема фармацевтических, биологических, доклинических и клинических исследований для оценки БЛП должен проводиться с учетом особенностей исходного сырья и технологического процесса производства БЛП в соответствии с актами Евразийской экономической комиссии в сфере регулирования обращения биологических лекарственных средств²⁶.

Производство БЛП характеризуется рядом особенностей, связанных с уникальными технологическими процессами (например, культивирование производственных штаммов микроорганизмов или штаммов-продуцентов эукариотических клеточных культур, экстракция веществ из биологических тканей и крови человека и животных и др.) и вариабельностью свойств исходного сырья. Это требует особого внимания к обеспечению стабильности характеристик лекарственного препарата, включая состав и природу родственных и производственных примесей²⁷. Производственный процесс

БЛП регулируется как Правилами надлежащей производственной практики²⁸, так и особыми правилами и рекомендациями, что гарантирует надлежащее качество лекарственных препаратов. Особенности технологии, критические этапы и необходимые испытания промежуточных продуктов описаны в соответствующих ФС и ОФС, устанавливающих требования к отдельным группам БЛП.

На основании положений трехстороннего руководства Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH²⁹) в Фармакопее Союза принята стратегия контроля БЛП, учитывающая основные принципы обеспечения качества. Эта стратегия базируется на оценке рисков, основанной на данных контроля исходного сырья и материалов, контроле критически важных параметров на промежуточных этапах производства с использованием соответствующих методов, а также валидации производственного процесса для подтверждения стабильности выпускаемых серий БЛП, сопоставимых с сериями, имеющими доказанную клиническую эффективность и безопасность [7]. Особое внимание уделяется оценке эффективности каждого этапа очистки, направленной на удаление и/или инактивацию посторонних агентов и примесей, источником которых могут быть клетки хозяина (ДНК), штаммы-продуценты (вирусы и вирусные частицы, белки), а также удаление примесей, связанных с самим процессом производства, таких как гетерологичные белки (компоненты питательных сред, иммуносорбенты для аффинной хроматографии др.). Процесс производства БЛП из плазмы крови человека должен включать не менее двух эффективных, отличающихся по механизму действия, стадий вирусной инактивации и/или элиминации возможных контаминирующих вирусов.

Все исходное сырье и материалы животного происхождения, представляющие опасность передачи возбудителей губчатой энцефалопатии животных, требуют оценки этого риска. БЛП,

²⁵ https://www.who.int/health-topics/biologicals#tab=tab_1

²⁶ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза».

²⁷ ICH Q5A(R2) *Viral safety evaluation of biotechnology products derived from cell lines of human or animal origin*. ICH; 2023. ICH Q5B *Analysis of the expression construct in cells used for production of r-DNA derived protein products*. ICH; 1995. ICH Q5D *Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological product*. ICH; 1997. ICH Q6B *Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products*. ICH; 1999.

²⁸ Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 77 «Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза».

²⁹ ICH Q6B *Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products*. ICH; 1999.

полученные с использованием клеточных линий, подвержены риску вирусной контаминации, связанной с возможным заражением клеточных субстратов или случайным попаданием вирусов на различных этапах технологического процесса. Обеспечение безопасности БЛП в отношении вирусного заражения достигается соблюдением требований к субстратам производства, проведением испытаний на наличие вирусов и оценкой удаления и/или инактивации вирусов в ходе производственного процесса. Особое внимание при получении БЛП из плазмы и клеток крови, биологических жидкостей и органов человека уделяется строгому соблюдению требований к здоровью доноров.

Для предотвращения нежелательных изменений свойств БЛП, вызванных многократными пересевами или большим числом пассажей, производство БЛП, получаемых из культур микроорганизмов или клеток, базируется на системе банков посевных культур (микроорганизмов или клеток), охарактеризованных должным образом. Для культивирования микроорганизмов и клеточных линий используют подходящие питательные и культуральные среды. В технологическом процессе необходимо использовать генетически стабильные производственные штаммы бактерий и вирусов, а также охарактеризованные и депонированные в официальных коллекциях клеточные линии животного происхождения, контролируемые по биологическим свойствам. Допустимое количество генераций (удвоений, пассажей) культур микроорганизмов или клеток для получения серии готового лекарственного препарата определяется на этапе фармацевтической разработки и подтверждается при валидации процесса производства. Генетическая стабильность производственных штаммов служит критерием ограничения числа пассажей бактерий или вирусов.

Стандартные образцы в контроле качества биологических лекарственных препаратов

Для оценки биологической активности БЛП³⁰, выраженной в международных единицах, используют международные СО, калиброванные в международных единицах. Эти СО служат основой для оценки активности или эффективности БЛП, обеспечивая согласованность результатов измерений в испытаниях лекарственных препаратов при контроле их качества с дозировкой

при клиническом применении (при назначениях пациентам)³¹. Международные единицы устанавливаются на основе результатов испытаний кандидатов в СО в нескольких лабораториях, расположенных в разных странах, с использованием собственных методик³². В испытаниях БЛП также могут применяться фармакопейные СО, калиброванные относительно соответствующего международного СО. За международную единицу активности принимают активность определенного количества международного СО, устанавливаемую ВОЗ. Для оценки биологической активности БЛП, выражаемой в других единицах (например, единиц связывания анатоксина), используют подходящий СО, охарактеризованный надлежащим образом.

В отдельных случаях для идентификации, количественного определения и других испытаний некоторых БЛП в качестве СО используют серию лекарственного препарата с подтвержденной стабильностью и репрезентативностью относительно серий, прошедших клинические исследования, либо репрезентативную серию фармацевтической субстанции. Этот подход применяется, например, для препаратов аллергенов и моноклональных антител.

Особенности контроля качества биологических лекарственных препаратов

Установление характеристик БЛП (готового продукта) включает определение физико-химических свойств, чистоты и наличия примесей, биологической активности, безопасности и, при необходимости, иммунохимических свойств³³. Допускается проведение испытаний на соответствующих промежуточных продуктах в тех случаях, когда их результаты важны для оценки качества (например, отсутствие вирусов), но не могут быть получены непосредственно на лекарственном препарате.

В ряде случаев активность БЛП зависит от конъюгации действующего вещества с другим соединением или от связывания с адъювантом. Диссоциацию активного(ых) ингредиента(ов) от носителя, используемого в составе конъюгатов или адъювантов, испытывают в реальном времени и при реальной температуре (в том числе в условиях транспортировки). Оценка стабильности³⁴ таких БЛП может быть затруднена, так как определение физико-химических характеристик или биологической активности в испытаниях

³⁰ https://www.who.int/health-topics/biologicals#tab=tab_1

³¹ <https://www.who.int/activities/providing-international-biological-reference-preparations>

³² WHO Expert Committee on Biological Standardization. 55th report. Technical report series No. 932. WHO; 2004.

³³ ICH Q6B Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products. ICH; 1999.

³⁴ ICH Q5C Quality of biotechnological products: Stability testing of biotechnological/biological Products. ICH; 1995.

in vitro может дать неточные результаты. В таких случаях проводят, например, испытание промежуточного продукта до конъюгации/связывания или используют другие подходы.

Для испытаний БЛП используют разнообразные методы, позволяющие оценить их физико-химические и биологические свойства.

Определение физико-химических свойств БЛП включает испытания по подтверждению состава, физических свойств, первичной структуры действующего вещества, в том числе оценке структурной гетерогенности (если применимо).

Биологическая активность — один из важнейших показателей качества БЛП, характеризующий способность препарата оказывать определенный биологический эффект³⁵. Для оценки биологической активности могут быть проведены испытания *in vivo* (на животных), в которых измеряют биологический ответ организма на введение БЛП, или исследования *in vitro* на культурах клеток, позволяющие определить биохимический или физиологический ответ на клеточном уровне. Также могут быть использованы биохимические методы, устанавливающие, например, скорость ферментативных реакций или биологические ответы, индуцируемые иммунологическими взаимодействиями. Устанавливаемое значение показателя, выражаемое в единицах активности³⁶, представляет собой количественную меру биологической активности БЛП и связано с его релевантными биологическими свойствами. При фармацевтической разработке БЛП должна быть подтверждена сопоставимость результатов определения активности в биологических испытаниях при контроле качества с эффективностью БЛП.

Если данные о физико-химических свойствах БЛП недостаточны для подтверждения структуры более высокого порядка, допускается проведение биологических испытаний с расширенными границами доверительного интервала в сочетании с определением содержания действующего (активного) вещества. Замена биологических исследований физико-химическими допускается, если последние позволяют получить детальную характеристику БЛП, включая информацию о структуре высокого порядка, и установлена значимая корреляция с биологической активностью. Если для количественного определения биологической активности применяются исключительно физико-химические методы (основанные на установленной корреляции), их результаты выражают в массовых единицах.

В случае БЛП на основе антител проводят оценку их иммунологических свойств. Для определения аффинности, авидности и иммунореактивности (включая перекрестную реактивность) исследуют связывание антител с очищенными антигенами или участками антигенов. Результаты иммунохимического анализа могут быть использованы для установления подлинности, однородности или чистоты, а также количественного определения БЛП.

Для некоторых групп БЛП, например вакцин и анатоксинов, проводят испытание на безопасность, включая оценку вирулентности вакцинных штаммов бактерий или вирусов, а также их токсигенности. Необходимость испытания на безопасность обусловлена возможной остаточной патогенностью производственных штаммов бактерий или вирусов, которая может проявляться в виде их вирулентных и токсигенных свойств. Возможные нарушения технологического процесса производства БЛП, например недостаточная детоксикация бактериальных токсинов при изготовлении анатоксинов, могут приводить к реверсии токсических свойств используемых штаммов.

Кроме того, для БЛП применимы испытания, обязательные для определенной лекарственной формы, такие как стерильность, микробиологическая чистота и др.

Основные подходы к замене или исключению испытаний *in vivo* в контроле качества биологических лекарственных препаратов

Одной из проблем при оценке качества БЛП является широкое применение методов *in vivo* [8]. В последнее время ведутся активные исследования, направленные на замену методов *in vivo* на более этичные и эффективные методы *in vitro*. Это позволяет ведущим мировым фармакопеям рассматривать альтернативные методы испытаний как для количественного определения, так и для оценки безопасности БЛП. В Европейской фармакопее предусмотрена возможность количественного определения вакцины (анатоксина) для профилактики дифтерии как методом летального заражения или методом кожных проб, так и по оценке уровня антител у иммунизированных животных³⁷. Применимость методов на разных этапах жизненного цикла данной вакцины четко регламентирована: методы, основанные на определении защитного действия анатоксина при заражении дифтерийным токсином иммунизированных морских свинок, используются

³⁵ ICH Q6B Specifications: Test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products. ICH; 1999.

³⁶ Там же.

³⁷ 2.7.6. Assay of diphtheria vaccine (adsorbed). European Pharmacopoeia. 11th ed. (Suppl. 11.7).

на стадии разработки анатоксина и при валидации (ревалидации) производственного процесса; метод, основанный на определении титра противодифтерийных антитоксических антител в сыворотке крови иммунизированных морских свинок, — для контроля качества выпускаемого анатоксина. Аналогичным образом рассматриваются стратегии контроля качества вакцины (анатоксина) для профилактики столбняка³⁸, вакцины для профилактики гепатита В (рекомбинантной)³⁹ и гепатита А⁴⁰. Из-за большой вариабельности методов *in vivo* их возможная замена на методы *in vitro* является сложной задачей. В связи с этим особое значение приобретает оценка сопоставимости результатов испытаний, полученных с применением более стабильных методов *in vitro*.

В настоящее время при участии некоторых фармакопейных комиссий проводится активная работа по научно обоснованному исключению испытания на аномальную токсичность из спецификаций на БЛП. Ряд мировых фармакопей полностью исключили это испытание. Так, Европейская фармакопея, начиная с отказа от посерийного контроля субстанций и лекарственных препаратов на аномальную токсичность, в настоящее время полностью исключила такие испытания. В рамках Фармакопеи США вместо отдельной монографии по испытаниям на аномальную токсичность ранее использовалась методика определения общей безопасности, указанная в Своде законов США⁴¹, которая также в настоящее время исключена.

Эксперты Индийской фармакопейной комиссии приняли за основу стратегию, предложенную ВОЗ, предполагающую возможность исключения таких испытаний при условии, что производитель установит стабильность процесса, однородность характеристик препарата от серии к серии и охарактеризует каждую серию с помощью достаточного количества физико-химических и/или биологических методов, одобренных национальным регуляторным органом. Этот подход позволил исключить испытания на аномальную токсичность из 39 монографий на вакцины. В тех случаях, когда исключение данного испытания недопустимо, оно проводится на готовом нерасфасованном продукте на этапе производства.

В Японской и Корейской фармакопеях общая монография по аномальной токсичности отсутствует. Однако в частных монографиях

на некоторые ЛС регламентированы требования к аномальной токсичности и присутствуют методики ее определения. Такой дифференцированный подход позволяет оценивать риск появления нерегламентированных токсичных примесей для конкретного ЛС с учетом характеристик исходного сырья и особенностей технологии производства. Так, например, в обеих указанных фармакопеях для урокиназы и хорионического гонадотропина, получаемых из сырья человеческого происхождения, предусмотрены испытания на аномальную токсичность.

С учетом современной тенденции обоснованного исключения испытаний на аномальную токсичность в проект ОФС «Биологические лекарственные препараты» для Фармакопеи Союза такие испытания не включены в качестве обязательной процедуры стандартизации БЛП.

Следует отметить, что в настоящее время в мировом фармакопейном сообществе активно обсуждается вопрос полного исключения испытания на пирогенность с использованием кроликов⁴². Согласно новыми требованиями Европейской фармакопеи в испытании на пирогенные вещества лекарственных препаратов, в том числе БЛП, необходимо учитывать возможную контаминацию бактериальными эндотоксинами или пирогенными веществами неэндотоксиновой природы. В зависимости от этого осуществляется выбор метода испытаний на бактериальные эндотоксины или тест активации моноцитов. Испытания на пирогенность с использованием кроликов при этом исключены как фармакопейный метод⁴³.

При подготовке проекта ОФС «Биологические лекарственные препараты» для Фармакопеи Союза с учетом отсутствия у производителей из стран ЕАЭС опыта полной замены испытаний на кроликах методом активации моноцитов было принято решение рассматривать данные испытания в рамках ОФС на отдельные группы БЛП.

Совершенствование подходов в фармакопейной стандартизации биологических лекарственных препаратов в рамках Государственной фармакопеи Российской Федерации

В соответствии с установленными современными принципами стандартизации БЛП на региональном уровне на основе подготовленного

³⁸ 2.7.8. Assay of tetanus vaccine (adsorbed). European Pharmacopoeia. 11th ed. (Suppl. 11.7).

³⁹ 2.7.15. Assay of hepatitis B vaccine (rDNA). European Pharmacopoeia. 11th ed. (Suppl. 11.7).

⁴⁰ 2.7.14. Assay of hepatitis A vaccine. European Pharmacopoeia. 11th ed. (Suppl. 11.7).

⁴¹ Code of Federal Regulations, Title 21, Chapter I, Subchapter F, Part 610, Subpart A, § 610.11. <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-F/part-610>

⁴² Guidelines on the phasing out of animal tests for the quality control of biological products (draft version). WHO; 2024.

⁴³ Pharmeuropa. 2023; 35.1.

нами и утвержденного Фармакопейным комитетом ЕАЭС проекта соответствующей ОФС сформирована обновленная структура раздела по БЛП для ГФ РФ XV изд., а также актуализирована ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты». В отличие от ОФС.1.7.1.0010.18 в ГФ РФ XIV изд. в подготовленном проекте БЛП сгруппированы по нескольким классификационным признакам, что позволяет в полной мере охватить все БЛП. Из рассматриваемой ОФС исключены указания о порядке регистрации фармацевтических субстанций для производства БЛП, а также о соответствии производства требованиям надлежащей производственной практики.

Требования для конкретных БЛП формируются с учетом информации, представленной как в ФС, так и в ОФС, регламентирующих требования к отдельным группам БЛП, и ОФС «Биологические лекарственные препараты». Это позволило исключить дублирование информации. Учитывая многообразие группы БЛП, исключено перечисление показателей качества как для фармацевтических субстанций, так и для лекарственных препаратов. При этом в ОФС включены наиболее важные параметры качества (например, активность) и принципы их нормирования и контроля. К включению в ГФ РФ XV изд. запланированы 13 ОФС, касающихся требований к различным группам БЛП (*рис. S2*, опубликован на сайте журнала, <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s2>).

Проекты ОФС «Вакцины и анатоксины», «Иммуноглобулины человека», «Лекарственные препараты аллергенов для медицинского применения», «Иммуноглобулины и иммунные сыворотки гетерологичные», «Лекарственные средства, получаемые с использованием технологии рекомбинантной ДНК», «Моноклональные антитела для медицинского применения» гармонизированы с соответствующими фармакопейными текстами, рассмотренными и утвержденными на Фармакопейном комитете ЕАЭС⁴⁴. ОФС «Токсины ботулинические», «Эритропоэтины», «Филграстимы» будут представлены только в ГФ РФ, однако при их подготовке учтены региональные требования в рамках стандартизации БЛП.

Исключение дублирования требований к БЛП в ОФС, касающихся различных групп БЛП, а также особенности формирования стандартов качества в рамках фармакопейных статей требуют нового подхода к применению всей

совокупности информации в фармакопейных стандартах качества. Этот подход учитывает основные требования к соответствующим лекарственным формам, вспомогательным веществам, упаковке, материалам, используемым при производстве упаковки, и др. Так, для оценки качества препарата иммуноглобулина человека необходимо учитывать требования ФС на конкретный специфический иммуноглобулин (при необходимости), ФС на иммуноглобулин человека в зависимости от способа введения (внутривенное, подкожное или внутримышечное), ОФС «Иммуноглобулины человека», а также ОФС «Биологические лекарственные препараты». Требования ОФС «Иммуноглобулины человека», включая испытания лекарственного препарата, должны быть дополнены требованиями, представленными в ФС. Аналогичный подход применяется при формировании требований к иммуноглобулинам и иммунным сывороткам гетерологичным. В то же время для вакцин и анатоксинов, в силу больших различий внутри этих групп препаратов, требования ФС включают (а не дополняют), испытания, указанные в ОФС «Вакцины и анатоксины».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ международных и национальных нормативных и правовых документов позволил сформулировать определение БЛП, применяемое в фармакопейных целях, как для Фармакопеи Союза, так и для Государственной фармакопеи Российской Федерации. Проведена фармакопейная стандартизации требований к различным группам БЛП, выделены основные аспекты, требующие рассмотрения в рамках производства (технологии), контроля качества промежуточных продуктов и лекарственного препарата.

В рамках гармонизации Государственной фармакопеи Российской Федерации с требованиями Фармакопеи Союза установлены основные требования к БЛП с учетом особенностей их производства и контроля качества.

Разработан проект общей фармакопейной статьи «Биологические лекарственные препараты» для Фармакопеи Союза, и на его основе актуализирована ОФС.1.7.1.0010.18 «Биологические лекарственные препараты». Обоснованы подходы к формированию фармакопейных статей и общих фармакопейных статей, касающихся требований к различным группам БЛП.

⁴⁴ <https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/formirovanie-obshchikh-rynkov/pharmacopoeia/farmakopeya-16-08-24.php>
<https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/formirovanie-obshchikh-rynkov/pharmacopoeia/farmakopeya-26-06.php>
<https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/formirovanie-obshchikh-rynkov/pharmacopoeia/farmakopeya-15-06.php>
<https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/formirovanie-obshchikh-rynkov/pharmacopoeia/farmakopeya-14-02.php>

Литература/References

1. Меркулов ВА, Ягудина РИ, Серпик ВГ. Глобальный спектр разработки инновационных лекарственных препаратов: описательный обзор. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(1):14–28. Merkulov VA, Yagudina RI, Serpik VG. Global pipeline of innovative medicinal products: A narrative review. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(1):14–28 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-1-14-28>
2. Устюгова ЕА, Савкина МВ, Горяев АА, Бондарев ВП, Меркулов ВА, Мельникова ЕВ. Применение биомедицинских клеточных продуктов для лечения онкологических заболеваний. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(4):206–14. Ustyugova EA, Savkina MV, Goryaev AA, Bondarev VP, Merkulov VA, Melnikova EV. The current use of biomedical cell products for cancer treatment. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(4):206–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-4-206-214>
3. Тулегенова АУ. Фармакопейная Евразийского экономического союза: испытания, методики и требования. *Вестник Росздравнадзора*. 2021;4(4):64–8. Tulegenova AU. The Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union: Tests, methods, and requirements. *Vestnik Roszdravnadzora*. 2021;4(4):64–8 (In Russ.). EDN: [NIABUH](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-4-206-214)
4. Мусинов СР, Тулегенова АУ. Государственная фармакопея — главный стандарт качества лекарственных средств и изделий медицинского назначения в Республике Казахстан. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;2(2):26–30. Musinov SR, Tulegenova AU. The State Pharmacopoeia — main standard of quality of medicines and medical devices in the Republic of Kazakhstan. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;2(2):26–30 (In Russ.). EDN: [WBVVUT](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2016-2-26-30)
5. Цындимеев АГ, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Саканян ЕИ. Российская фармакопейная практика и перспективы ее развития. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;2(2):4–7. Tsyndymeev AG, Olefir YuV, Merkulov VA, Sakanyan EI. Russian pharmacopoeial practices and the prospects for future development. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;2(2):4–7 (In Russ.). EDN: [WBVVTF](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2016-2-4-7)
6. Мовсесянц АА, Бондарев ВП, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Шимчук ЛФ. Стандарты качества иммунобиологических лекарственных препаратов — новое в Государственной фармакопее Российской Федерации. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;2(2):38–41. Movsesyants AA, Bondarev VP, Olefir YuV, Merkulov VA, Shimchuk LF. Quality standards for immunobiological medicinal products — new texts in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;2(2):38–41 (In Russ.). EDN: [WBVVVX](https://doi.org/10.30895/2221-996X-2016-2-38-41)
7. Солдатов АА, Яковлев АК, Авдеева ЖИ, Горенков ДВ, Коровкин АС, Косенко ВВ. Обзор современных регуляторных требований к изучению стабильности биологических лекарственных препаратов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024;24(3):335–47. Soldatov AA, Yakovlev AK, Avdeeva ZHI, Gorenkov DV, Korovkin AS, Kosenko VV. Current regulatory requirements for stability studies of biological medicinal products: A review. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2024;24(3):335–47 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-3-335-347>
8. Viviani L, Halder M, Gruber M, Bruckner L, Cussler K, Sanyal G, et al. Global harmonization of vaccine testing requirements: Making elimination of the ATT and TABST a concrete global achievement. *Biologicals*. 2020;63:101–5. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.10.007>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещены рисунки S1 и S2.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s2>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **О.Г. Корнилова** — концепция работы, написание текста рукописи, формулировка выводов; **В.Л. Багирова** — концепция работы, формулировка выводов, утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Additional information. Figures S1 and S2 are published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s1>

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-71-82-fig-s2>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **O.G. Kornilova** conceptualised the study, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. **V.L. Bagirova** conceptualised the study, formulated the conclusions, and approved the final version of the manuscript for publication.

Об авторах / Authors

Корнилова Ольга Геннадьевна, д-р фарм. наук / **Olga G. Kornilova**, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1439-2052>

Багирова Валерия Леонидовна, д-р фарм. наук, проф. / **Valeria L. Bagirova**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0379-6158>

Поступила 29.09.2024

После доработки 10.03.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 29 September 2024

Revised 10 March 2025

Accepted 21 March 2025

УДК 615.076:615.371:579.61
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96>

Обзор | Review



Эволюция АКДС-вакцины: разнообразие составов, трудности стандартизации, перспективы развития

Е.И. Комаровская[✉], О.В. Проскурина, А.А. Солдатов

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

✉ Комаровская Елена Игоревна; Komarovskaya@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Современные комбинированные АКДС-вакцины представлены четырех-, пяти- и шестивалентными препаратами, содержащими инактивированные полиомиелитные и гемофильные компоненты, а также вакцинные компоненты против гепатита В. Несмотря на широкое внедрение этих вакцин в национальные программы вакцинации, остаются проблемные вопросы, связанные с иммуногенностью и безопасностью коклюшного компонента, стандартизацией производства и методов контроля качества АКДС-вакцин, а также с включением этих вакцин в национальные календари профилактических прививок.

ЦЕЛЬ. Обзор состояния комбинированных вакцин на основе АКДС, анализ актуальных проблем, связанных с применением и совершенствованием их качества.

ОБСУЖДЕНИЕ. АКДС-вакцина занимает центральное положение в национальных календарях профилактических прививок. Разработки многочисленных безопасных и эффективных АКДС-вакцин способствовали созданию комбинированных препаратов для вакцинации младенцев. Добавление инактивированных вакцин от полиомиелита, гемофильной инфекции и гепатита В благоприятствовало внедрению комбинированных вакцин в рекомендуемые графики иммунизации и позволило сократить количество инъекций, получаемых ребенком. Вакцины на основе АКДС от разных производителей отличаются по составу и количественному содержанию антигенов, а также по применяемым методам контроля их качества. Основные различия состава вакцин обусловлены содержанием цельноклеточного или бесклеточного коклюшных компонентов. В настоящее время повышение заболеваемости коклюшем в мире связывают с широким применением бесклеточной вакцины, которая не обеспечивает формирование долговременного иммунитета. В обзоре рассмотрены вопросы взаимного влияния антигенов на эффективность и безопасность вакцин, стандартизации производства и контроля качества антигенов. Проанализированы данные о различных комбинациях вакцин на основе АКДС и количественном содержании антигенов. Предложены перспективные направления разработок по повышению качества и эффективности рассматриваемой группы вакцин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Достижение высокого уровня специфической активности и безопасности комбинированных вакцин на основе АКДС возможно прежде всего при решении проблем в области стандартизации производства и контроля качества, принимая во внимание ограничения международного обмена вакцинными препаратами и особенности их лицензирования.

Ключевые слова:

вакцина против дифтерии; вакцина против столбняка; вакцина против коклюша; бесклеточная коклюшная вакцина; цельноклеточная коклюшная вакцина; АКДС-вакцина; вакцинопрофилактика; вакцинация; иммунитет; комбинированные вакцины; национальный календарь профилактических прививок

Для цитирования: Комаровская Е.И., Проскурина О.В. Солдатов А.А. Эволюция АКДС-вакцины: разнообразие составов, трудности стандартизации, перспективы развития. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):83–96. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DPT vaccine evolution: Formulation differences, standardisation issues, and development prospects

Elena I. Komarovskaya✉, Olga V. Proskurina, Aleksandr A. Soldatov

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

✉ Elena I. Komarovskaya; Komarovskaya@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Currently, diphtheria, pertussis, and tetanus (DTP) vaccines are available in tetra-, penta-, and hexavalent combinations with inactivated poliomyelitis, *Haemophilus influenzae*, and hepatitis B components. Despite the widespread introduction of DTP vaccines in national vaccination programmes, concerns remain about the immunogenicity and safety of the pertussis component, the standardisation of vaccine production and quality control methods, and the inclusion of DTP vaccines in national routine vaccination schedules.

AIM. This study aimed to provide an updated overview of DTP-based combined vaccines and analyse the current challenges associated with their use and quality improvement.

DISCUSSION. DTP vaccines hold a central place in national routine vaccination schedules. The development of numerous safe and effective DTP vaccines has contributed to the formulation of DTP-based combined vaccines that include additional components and are suitable for infants. The addition of inactivated components against poliomyelitis, *H. influenzae*, and hepatitis B has facilitated the introduction of DTP-based combined vaccines into the recommended vaccination programmes and has reduced the number of injections received by a child. However, DTP-based combined vaccines from different manufacturers differ in the composition and quantity of antigens and in quality control methods. The key differences in the composition of these vaccines are due to the inclusion of either whole-cell or acellular pertussis. The current global rise in the incidence of pertussis is associated with the widespread use of acellular vaccines, which do not induce long-term immunity. This review considers the mutual influence of antigens in relation to vaccine efficacy and safety and addresses the standardisation issues associated with antigen production and quality control. The article analyses data on various DTP-based combined vaccines and the quantity of antigens in them. The review discusses promising areas for further improvement of the quality and effectiveness of DTP-based combined vaccines.

CONCLUSIONS. Addressing unresolved standardisation issues in the production and quality control of DTP-based combined vaccines, which (along with country-specific licensing requirements) limit the international exchange of vaccines, can facilitate international recognition and ensure a high level of potency and safety of DTP-based combined vaccines.

Keywords:

diphtheria vaccine; tetanus vaccine pertussis vaccine; acellular pertussis vaccine; whole-cell pertussis vaccine; DPT vaccine; preventive vaccination; vaccination; immunity; combination vaccines; national vaccination schedule

For citation: Komarovskaya E.I., Proskurina O.V., Soldatov A.A. DPT vaccine evolution: Formulation differences, standardisation issues, and development prospects. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):83–96. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022200103-5).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Вакцина для профилактики дифтерии, столбняка и коклюша (АКДС-вакцина) является одной из старейших вакцин, но ее применение до настоящего времени сопряжено с серьезными дискуссиями относительно безопасности и эффективности. Основные опасения вызывает наличие в вакцине цельноклеточного коклюшного компонента, консерванта и адъюванта. Антипрививочная кампания в 70-х годах XX века в результате череды судебных исков к производителям привела к тому, что многие фармацевтические компании прекратили производство АКДС-вакцин [1]. В этот период ученые начали поиски решения проблемы реактогенности корпускулярного коклюшного компонента и разработки возможных комбинаций вакцин на основе дифтерийного и столбнячного компонентов (анатоксинов) с новыми антигенами.

В настоящее время комбинированные вакцины на основе дифтерийного и столбнячного анатоксинов представлены широким спектром пяти- или шестивалентных вакцин с цельноклеточным или бесклеточным коклюшным компонентом, а также вакцин со сниженным содержанием антигенов. Применение многокомпонентных вакцин призвано значительно повысить эффективность вакцинопрофилактики и ее охват. В то же время отличия в составе и концентрации антигенов в вакцинах создают сложности при включении в национальные календари профилактических прививок.

Внедрение комбинированных вакцин, содержащих бесклеточную коклюшную вакцину, связывают с резким повышением заболеваемости коклюшем во всем мире [2–4]. Сложившаяся ситуация вызывает серьезные дискуссии относительно состава комбинированных вакцин на основе АКДС, поскольку он зачастую различается у разных производителей. Усилия ученых также направлены на поиск альтернативных вакцин против коклюша и новых стратегий вакцинации.

Цель работы — обзор состояния комбинированных вакцин на основе АКДС, анализ актуаль-

ных проблем, связанных с применением и совершенствованием их качества.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

История разработки АКДС-вакцины

Вакцина против коклюша, дифтерии и столбняка была впервые одобрена в 1948 г. в США [5]. Все три компонента вакцины объединили в 1943 г. До этого в практике использовали вакцины, содержащие каждый компонент отдельно. Вакцина, содержащая коклюшный компонент, была зарегистрирована в 1914 г. в США. Вакцина с дифтерийным анатоксином адсорбированная зарегистрирована в 1926 г. (США), а вакцина против столбняка адсорбированная — в 1937 г. (США) [6].

Дифтерийный и столбнячный анатоксины

В конце XIX века был достигнут существенный прогресс в понимании эпидемиологии и патогенеза дифтерии и столбняка. В 1883 г. Э. Клебс описал, а в 1888 г. Ф. Леффлер выделил возбудителя дифтерии — *Corinebacterium diphtheriae*. В 1888 г. Э. Ру и А. Йерсен (Ерсин) установили, что дифтерийный токсин в фильтратах бактериальных культур был причиной гибели морских свинок. В 1891 г. Э. фон Беринг для лечения дифтерии у детей начал успешно применять гипериммунную лошадиную сыворотку, что позволило снизить смертность с 7 до 2,5%. В 20-е годы XX века Г. Рамон во Франции, а А. Гленни и Б. Хопкинс в Великобритании по отдельности разработали успешный способ изготовления дифтерийной вакцины. Было установлено, что токсин при нагревании в присутствии формальдегида инвертируется в нетоксическую форму — анатоксин без потери иммуногенной активности [7].

Из-за тяжести клинического течения дифтерии контролируемые клинические исследования эффективности дифтерийного анатоксина никогда не проводились. Эффективность вакцинации подтверждалась данными о заболеваемости¹. Например, в 1943 г. в Великобритании заболеваемость дифтерией среди непривитых людей по сравнению с привитыми регистрировалась

¹ <https://www.canada.ca/en/public-health/services/immunization/vaccine-preventable-diseases/diphtheria/health-professionals.html#fig1>

в 3,5 раза чаще, а уровень смертности был в 25 раз выше [8].

В 1884 г. две независимые группы ученых впервые спровоцировали столбняк у животных. А. Карле и Дж. Раттоне вводили гнойное отделяемое раны умершего от столбняка человека, А. Николаер — образцы почвы. В 1889 г. К. Сибасабуро выделил чистую культуру возбудителя столбняка *Clostridium tetani*. Э. Нокард установил, что симптомы и тяжесть заболевания напрямую зависят от количества токсина, достигшего центральной нервной системы. В 1897 г. он сообщил об успехах лечения больных столбняком лошадей противостолбнячной гипериммунной сывороткой [9]. Для лечения людей противостолбнячную сыворотку начали активно применять во время Первой мировой войны [10].

В начале 20-х годов XX века Г. Рамон разработал метод получения столбнячного анатоксина, а в 1924 г. в США была зарегистрирована первая вакцина от столбняка. Во время Второй мировой войны вакцину начали внедрять в вооруженных силах, что позволило снизить заболеваемость в армии до 0,44 случая на 100 тыс. человек. Заболевание регистрировали в основном у солдат, избегавших вакцинации. В 40-х годах XX века во многих странах начали внедрять в практику здравоохранения вакцинацию детей против столбняка [11].

Цельноклеточная коклюшная вакцина

Первая неудачная попытка разработки коклюшной вакцины была предпринята французским бактериологом Ш. Николем в 1913 г. Сотрудники Датского серологического института в Копенгагене в 1923–1924 гг. разработали вакцину из свежeweделенной культуры *Bordetella pertussis*, выращенной на среде Борде–Жангу. Препарат содержал 10 млрд клеток в 1 мл физиологического раствора и фенол в качестве консерванта. Эту вакцину использовали во время двух эпидемий коклюша на Фарерских островах. Было установлено, что вакцина не обеспечивала полную защиту от инфекции, но заметно облегчала тяжесть заболевания [11–13].

В 30-е годы XX века Департамент здравоохранения штата Мичиган (США), занимавшийся реализацией программы по разработке и производству вакцин [14], начал исследования вакцины против коклюша. П. Кендрик и Г. Элдеринг установили, что степень защиты зависит от количества клеток *B. pertussis*, содержащихся в прививочной дозе вакцины [11–15]. В 1934–1935 гг. было проведено первое контролируемое

клиническое исследование коклюшной вакцины, в котором приняли участие 1592 ребенка: 712 — в группе с введением вакцины и 880 — в контрольной группе. В результате четверо из 712 вакцинированных детей заболели коклюшем в легкой форме, в контрольной группе — 63 ребенка, в том числе и в тяжелой форме [16]. В последующих исследованиях было установлено, что трехкратная иммунизация оказывала такой же защитный эффект, как и четырехкратная [15]. В 1938 г. на основе этих исследований Департамент здравоохранения штата Мичиган начал производство вакцины против коклюша для детей в Мичигане, и до 1940 г. вакцина против коклюша была внедрена в практику здравоохранения по всей территории США.

В 1948 г. дифтерийный, столбнячный и коклюшный антигены были объединены в одну вакцину, что позволило сократить количество прививок детям и увеличить охват детского населения вакцинацией [11]. В дальнейшем компоненты вакцины были адсорбированы на солях алюминия. При этом иммуногенность дифтерийного и столбнячного анатоксинов усилилась за счет совместного адъювантного эффекта коклюшной вакцины и соли алюминия [7].

Включение АКДС-вакцины в программы иммунизации принесло огромные преимущества, такие как быстрое снижение заболеваемости и смертности от всех трех инфекций во всем мире. Однако в 1970–1980 гг. в некоторых странах мира, например в Японии, Швеции и ФРГ, активная пропаганда со стороны активистов антипрививочного движения, утверждавших, что коклюшный компонент в составе АКДС-вакцины является причиной тяжелых заболеваний (в том числе аутизма), привела к резкому снижению охвата населения вакцинацией. На фоне этих событий ежегодная заболеваемость коклюшем, а также смертность от него вернулись к уровню довакцинального периода [1]. В результате судебных исков от родителей к производителям часть компаний остановила производство вакцин, что спровоцировало их дефицит в США и Европе². В ответ на быстрый рост заболеваемости коклюшем были предприняты усилия по разработке более безопасной бесклеточной коклюшной вакцины [17].

Бесклеточная коклюшная вакцина

Антигены *B. pertussis* — филаментозный гемагглютинин (ФГА), коклюшный токсин (в вакцине инактивированный в анатоксин — КА), пертактин (ПРН) и фимбрии типов 2 и 3 (ФИМ2

² <https://historyofvaccines.org/vaccines-101/misconceptions-about-vaccines/history-anti-vaccination-movements>

и ФИМЗ) рассматривали для включения в состав АКДС-вакцины. В конце 70-х — начале 80-х гг. XX века в Японии и Швеции были проведены первые клинические исследования бесклеточных вакцин: однокомпонентной — на основе КА и двухкомпонентной, содержащей обработанные формальдегидом ФГА и КА. Вакцины вводили детям в возрасте 2 лет и старше. В Японии, в зависимости от возрастной группы прививаемых детей и дозировки вакцинного препарата, показатели эффективности вакцины составили от 78 до 92%. В Швеции эффективность двухкомпонентной вакцины, содержащей ФГА и КА, при введении двух доз младенцам составила 69%, однокомпонентной вакцины (КА) — 54%. В другом клиническом исследовании эффективность вакцины на основе КА при введении трех доз была на уровне 71% [12, 18]. Тем не менее течение коклюша у вакцинированных детей было более легким, а длительность спазматического периода была короче, чем у непривитых [19]. Таким образом, было признано, что полученные результаты свидетельствуют о достаточной эффективности бесклеточных вакцин.

В 1981 г. АКДС-вакцина, содержавшая бесклеточный коклюшный компонент (DTaP), была одобрена в Японии и постепенно заменила АКДС-вакцину, содержавшую цельноклеточный коклюшный компонент (DTwP) [11]. Результаты применения вакцины в Японии побудили другие страны к активным разработкам DTaP. В 90-е годы XX века в разных странах были проведены клинические исследования по оценке эффективности бесклеточных вакцин. Сравнить результаты клинических исследований между собой и сделать однозначные выводы не удалось по причинам использования вакцин, отличавшихся по композиции и количественному содержанию антигенов, используемым адъювантам и вспомогательным веществам, а также методам очистки и детоксикации³. В качестве препаратов сравнения использовали вакцины DTwP от разных производителей, которые отличались по количественному составу антигенов и обладали различной специфической активностью [13, 20].

Первоначально DTaP применяли для ревакцинации детей младшего возраста и при поступлении детей в школу. Постепенно DTaP была включена в национальные программы иммунизации разных стран для первичной вакцинации. В 1992 г. были введены рекомендации Консультативного комитета по практике иммунизации (Advisory Committee on Immunization Practices, ACIP) по использованию DTaP в качестве четвертой и пятой бустерных доз коклюшной вакцины. Согласно рекомендациям ACIP с 2006 г. все подростки должны получать вакцину против дифтерии со сниженным содержанием антигена, столбняка и коклюша (бесклеточный компонент) по программе ревакцинации⁴.

АКДС-вакцина в настоящее время

По данным ВОЗ и Международного чрезвычайного фонда помощи детям при Организации Объединенных Наций (United Nations International Children's Emergency Fund) в настоящее время 64% всех стран мира⁵ используют АКДС-вакцины с цельноклеточным коклюшным компонентом. В Австралии, США, Канаде, Евросоюзе (за исключением Польши⁶) и некоторых странах Азии и Латинской Америки — с бесклеточным компонентом.

Производство и контроль качества компонентов вакцин

Требования к безопасности и качеству компонентов вакцины и их содержанию как на этапе производства, так и в готовом препарате строго регламентированы в рекомендациях ВОЗ⁷, а также в региональных и национальных фармакопеях. К производству и контролю анатоксинов предъявляют жесткие требования.

Производственный процесс для дифтерийного (ДА) и столбнячного (СА) анатоксинов во всем мире идентичен. Каждый анатоксин представляет собой обезвреженный при нагревании в присутствии формальдегида соответствующий бактериальный экзотоксин. Анатоксин проверяют на стерильность, полноту обезвреживания токсина, отсутствие реверсии

³ The immunological basis for immunization series: module 4: Pertussis. WHO; 2017.

⁴ ACIP Recommendations: Diphtheria, tetanus and pertussis (DTaP/Tdap/Td) vaccines. <https://www.cdc.gov/acip-recs/hcp/vaccine-specific/dtap-tdap-td.html>

⁵ Diphtheria tetanus pertussis containing vaccines: Market and supply update. UNICEF Supply Division; 2023. <https://www.unicef.org/supply/media/17606/file/Diphtheria-Tetanus-Pertussis-Vaccine-Containing-Market-and-Supply-Update-June-2023.pdf>
Global market study diphtheria and tetanus-containing vaccines. WHO; 2019. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/mi4a/dt_market_study_public_summary-may2019.pdf?sfvrsn=ddfb81b8_6&download=true

⁶ Vaccine scheduler. European Centre for Disease Prevention and Control; 2024. <https://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/https://biomed.pl/en/products/?cat=vaccines>

⁷ Technical report series, No. 800. WHO; 1989.

Technical report series, No. 980. WHO; 2012.

Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines. WHO; 2013.

токсических свойств, антигенную активность и чистоту антигена. Методы лабораторного контроля этих показателей качества у производителей могут отличаться [21]. Затем анатоксины очищают, концентрируют и сорбируют на адъюванте — алюминия гидроокиси или соли алюминия. Адсорбция анатоксинов позволяет снизить концентрацию антигенов в вакцине, сохранив высокую эффективность и уменьшив реактогенность [22]. В настоящее время в мире ДА и СА в неадсорбированном виде в вакцинах не используются. При необходимости в препарат добавляют консервант (например, мертиолят или 2-феноксиэтанол), который гарантирует стерильность на протяжении всего срока годности вакцины.

Факт наличия в вакцинном препарате адъюванта на основе алюминия, а также консерванта часто используется активистами антипрививочного движения в качестве аргумента о причинении тяжкого вреда здоровью несмотря на то, что в открытом доступе достаточно информации, опровергающей эти ложные утверждения⁸.

Цельноклеточные вакцины против коклюша представляют собой инактивированную формалином суспензию бактерий *B. pertussis*. Вакцина содержит все основные антигены коклюша, такие как коклюшный токсин, аденилатциклазный токсин, липоолигосахарид, филаментозный гемагглютинин и агглютиногены. Методы производства вакцины и различные штаммы возбудителя, которые отбирают в качестве «производственных», отличаются у разных производителей, в результате чего группа цельноклеточных вакцин является относительно разнородной⁹ [23, 24]. Требования ВОЗ к безопасности, содержанию микробных клеток в прививочной дозе и эффективности цельноклеточных вакцин против коклюша изложены в соответствующем документе¹⁰.

Бесклеточные коклюшные вакцины могут содержать от одного до пяти очищенных и детоксицированных антигенов коклюшной клетки — ФГА, КА, ПРН, ФИМ2 и ФИМ3. Вакцины отличаются по числу компонентов, количеству каждого компонента, методам их очистки и методу инактивации коклюшного токсина. До настоящего

времени требования к составу бесклеточных вакцин не установлены¹¹. До настоящего времени требования к составу бесклеточных вакцин и критерии оценки специфической активности не установлены [22]. ВОЗ разработаны рекомендации¹² по производству, контролю критических точек, проведению доклинических и клинических исследований вакцин.

Совершенствование вакцинопрофилактики

Высокая эффективность и безопасность АКДС-вакцин способствовала исследованиям и разработкам комбинированных вакцин с новым составом. К созданию новых комбинаций антигенов в вакцинах производителей побудила рекомендация ВОЗ о сокращении числа визитов детей к врачу для проведения профилактических прививок.

При разработке и внедрении новых комбинаций вакцин на основе АКДС исследователи столкнулись с техническими проблемами, связанными со взаимным влиянием моновакцин на иммуногенность других вакцин в составе комбинированной вакцины. Наиболее часто сообщаемым примером иммунной интерференции в комбинированных вакцинах на основе ДТаР является снижение титров антител к Hib-компоненту (*Haemophilus influenzae* тип b). В вакцинах на основе DTwP интерференцию регистрировали в меньшей степени, предположительно из-за адъювантного эффекта цельноклеточного коклюшного компонента. Например, в доклинических испытаниях вакцины ДТаР, содержащей полисахарид Hib в одном шприце, регистрировали снижение защитных титров антител к Hib-компоненту, в то время как при использовании вакцин на основе DTwP снижения не обнаружено. Одним из объяснений этого является несовместимость Hib-компонента с адъювантом на основе квасцов. Эксперименты с вакциной, содержащей один Hib-компонент и адсорбированный на алюминия гидроокиси, показали, что снижение уровней протективных антител к полирибозилрибитолфосфату (основной антиген вакцины) при адсорбции на алюминия гидроокиси составило от 5 до 11 раз [25].

В настоящее время применяют вакцины, содержащие ДА, СА и коклюшный компонент

⁸ <https://www.unicef.org/kazakhstan/media/9281/file/Borshure%20egu.kz%20rus.pdf>

<https://www.kb85.ru/blog/news/mify-o-vakzinah-i-vakzinoprofilaktike/>

<https://fantasyclinic.ru/encyclopedia/vaccinations/privivki-prichina-smertelnykh-zabolevaniy/>

<https://informburo.kz/cards/rtut-autizm-izmenenie-dnk-vsya-pravda-o-vakzinah>

⁹ <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/242416/WER9035-rus.pdf?sequence=40&isAllowed=y>

¹⁰ Technical report series, No. 941. WHO; 2007.

¹¹ <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/242416/WER9035-rus.pdf?sequence=40&isAllowed=y>

¹² Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of acellular pertussis vaccines. Replacement of Annex 2 of WHO Technical report series, No. 878. WHO; 1998.

в комбинации с инактивированными полиомиелитными компонентами (IPV), вакцинами против гепатита В (НерВ) и/или *Haemophilus influenzae* типа b (Hib) в качестве тетра-, пента- или гексавалентных препаратов (табл. S1, опубликована на сайте журнала¹³).

В 1994–1995 гг. количество профилируемых инфекций в календарях разных стран достигало 9, а к настоящему времени их количество возросло до 17. Современный ребенок к двухлетнему возрасту может получить до 27 инъекций. В результате график прививок стал сложным, и дети получают гораздо больше инъекций¹⁴ [26, 27]. Упрощение графиков иммунизации стало возможным благодаря применению многокомпонентных комбинированных вакцин на основе DTwP и DTaP. Сокращение количества инъекций за счет применения комбинированных вакцин способствует следованию сложным графикам вакцинации и приводит к увеличению охвата вакцинацией [28, 29]. В качестве примера G.S. Marshall с соавт. сообщили о повышении показателей охвата вакцинацией детей до двух лет при применении пентавалентной вакцины Pediarix™ (табл. 1) по сравнению с другими вакцинами, содержащими те же антигены в составе трех- и четырехвалентных вакцин [30].

Применение новых комбинированных вакцин позволяет уменьшить количество вспомогательных веществ (адъюванты, консерванты и другие вещества), вводимых в организм ребенка. В то же время это может вызывать сложности при нарушении графика вакцинации, связанные с взаимозаменяемостью вакцин, особенно для младенцев [31].

Проблемы, возникающие при объединении различных схем иммунизации, можно продемонстрировать на примере вакцины против гепатита В. ВОЗ рекомендует вводить первую дозу вакцины в первые 24 ч после рождения ребенка. Затем в возрасте 1 и 6 мес. должны следовать вторая и третья доза вакцины соответственно. В возрасте 2, 4 и 6 мес. должна быть проведена вакцинация АКДС (время вакцинации может отличаться в зависимости от национального календаря профилактических прививок). В этом случае применение комбинированной вакцины, содержащей гепатитный компонент, у детей в возрасте 2, 4 и 6 мес. приведет к необходимости введения лишней (четвертой) дозы вакцины

против гепатита В в возрасте 6 мес. [25]. Таким образом, комбинированные вакцины на основе АКДС могут быть применены только для вакцинации младенцев старше 6 мес.

В условиях глобализации для современной вакцинной индустрии характерна интернационализация производства, когда компоненты вакцины производят на предприятиях в разных странах. При производстве одного и того же компонента вакцины производители могут использовать различные штаммы, среды, стабилизаторы и методы очистки, что оказывает влияние на эффективность конечного продукта. Поэтому вакцины, предназначенные для профилактики одних и тех же инфекций, но полученные разными производителями, не всегда взаимозаменяемы¹⁵ [31].

Анализ состава комбинированных АКДС-вакцин

Содержание антигенов в прививочной дозе (0,5 мл) и их специфическая активность регламентированы в соответствии с рекомендациями ВОЗ и выражаются в принятых международных единицах (табл. 1). Такой подход обеспечивает единство качества всех производимых вакцин в мире. Например, содержание ДА и СА выражают в флокулирующих единицах (Lf) и определяют как количество, которое вступает в реакцию инициальной флокуляции с 1 МЕ международного стандартного дифтерийного или столбнячного антитоксина. К настоящему времени на международном уровне для бесклеточного коклюшного компонента не утвержден состав антигенов, не существует надежного метода определения специфической активности как для цельноклеточной вакцины (метод интрацеребрального заражения лабораторных мышей) [22]. В таблице 1 представлено сравнение состава современных комбинированных вакцин на основе АКДС-вакцины, используемых для иммунизации младенцев. Из таблицы 1 следует, что содержание дифтерийного и столбнячного анатоксинов, а также коклюшных компонентов в вакцинных препаратах отличается не только у разных производителей, но и в рамках одного концерна.

Согласно рекомендации ВОЗ специфическая активность анатоксинов, входящих в состав комбинированных препаратов или применяющихся отдельно и используемых для первичной вакцинации, должна выражаться в международных

¹³ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96-table-S1>

¹⁴ <https://www.chop.edu/centers-programs/vaccine-education-center/vaccine-history/developments-by-year>
<https://historyofvaccines.org/>
<https://vaccineknowledge.ox.ac.uk/vaccination-schedules-other-countries#Why-are-different-vaccination-schedules-used-in-different-countries>

¹⁵ www.cdc.gov/vaccines/hcp/acip-recs/generalrecs/downloads/general-recs.pdf
<https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=35506>

Таблица 1. Сравнительный состав антигенов в прививочной дозе (0,5 мл) комбинированных вакцин на основе АКДС
Table 1. Comparative antigenic composition per single human dose (0.5 mL) of combined DTP vaccines

Торговое наименование, производитель <i>Trade name, manufacturer</i>	Содержание антигена в прививочной дозе (требования ВОЗ) <i>Antigen amount per single human dose (WHO requirements)</i>														
	ДА, Lf <i>DT, Lf</i>	СА, Lf <i>TT, Lf</i>	КК, млрд <i>wP, B</i>	Бесклеточный коклюшный компонент <i>Acellular pertussis component</i>						Hib-компонент ^a <i>Hib component^a</i>		Гепатитный компонент, мкг <i>Hepatitis B component, µg</i>	Полиомиелитный компонент (инактивированный) <i>Inactivated poliovirus vaccine</i>		
				КА, мкг <i>PTx, µg</i>	ФГА, мкг <i>FHA, µg</i>	ПРН, мкг <i>PRN, µg</i>	ФИМ, мкг <i>FIM, µg</i>	ПРФ, мкг <i>PRP, µg</i>	СА-конъюгат, мкг <i>TT conjugate, µg</i>	Тип 1 ^b , ед <i>Type 1^b, units</i>	Тип 2, ед <i>Type 2, units</i>		Тип 3, ед <i>Type 3, units</i>		
≤30 Lf	≤25 Lf	≤20 млрд <i>≤20 B</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	≥40 ед <i>≥40 units</i>	≥8 ед <i>≥8 units</i>	≥32 ед <i>≥32 units</i>		
Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная (АКДС-вакцина) [™] , АО «НПО Микроген» (Россия) <i>DTwP (adsorbed), JSC SIC Microgen, Russia</i>	15	5 EC <i>5 BU</i>	10	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
DTwP, Serum Institute of India Pvt Ltd	≤25	≥5	16	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
АКДС-ГепВ-вакцина [®] , АО «НПО Микроген» (Россия) <i>DTwP-HepB (adsorbed), JSC SIC Microgen, Russia</i>	15	5 EC <i>5 BU</i>	10	–	–	–	–	–	–	–	5	–	–	–	
DTwP-HepB, Serum Institute of India Pvt Ltd	≤25	≥5	16	–	–	–	–	–	–	–	10	–	–	–	
Diphtheria, Tetanus, Pertussis, Hepatitis B and <i>Haemophilus influenzae</i> type b Conjugate Vaccine Adsorbed, Serum Institute of India Pvt Ltd	≤25	≥5	16	–	–	–	–	–	10	19–33	10	–	–	–	
Инфанрикс [®] / <i>Infanrix[™]</i> , GlaxoSmithKline Beecham Plc	25	10	–	25	25	8	–	–	–	–	–	–	–	–	
Daptacel [®] , Sanofi Pasteur Ltd	15	5	–	10	5	3	5	–	–	–	–	–	–	–	
Пентаксим [®] / <i>Pentaxim[®]</i> , Sanofi Pasteur Ltd	30	10	–	25	25	–	–	–	10	18–30	–	40	8	32	
Инфанрикс [®] / <i>Infanrix[®]-IPV/Hib</i> , GlaxoSmithKline Beecham Plc	25	10	–	25	25	8	–	–	10	≈25	–	40	8	32	
HEXASILL [®] , Serum Institute of India Pvt Ltd ^c	≤30 ME <i>≤30 IU</i>	≥40 ME <i>≥40 IU</i>	≥4 ME <i>≥4 IU</i>	–	–	–	–	–	10	19–33	15	40	8	32	

Содержание антигена в прививочной дозе (требования ВОЗ) <i>Antigen amount per single human dose (WHO requirements)</i>														
Торговое наименование, производитель <i>Trade name, manufacturer</i>	ДА, Lf <i>DT, Lf</i>	СА, Lf <i>TT, Lf</i>	КК, млрд <i>wP, B</i>	Бесклеточный коклюшный компонент <i>Acellular pertussis component</i>					НйВ-компонент ^а <i>Hib component^a</i>		Гепа-титный компонент, мкг <i>Hepatitis B component, µg</i>	Полиомиелитный компонент (инактивированный) <i>Inactivated poliovirus vaccine</i>		
				КА, мкг <i>PTx, µg</i>	ФГА, мкг <i>FHA, µg</i>	ПРН, мкг <i>PRN, µg</i>	ФИМ, мкг <i>FIM, µg</i>	ПРФ, мкг <i>PRP, µg</i>	СА-конъюгат, мкг <i>TT conjugate, µg</i>	Тип 1 ^б , ед <i>Type 1^b, units</i>		Тип 2, ед <i>Type 2, units</i>	Тип 3, ед <i>Type 3, units</i>	
	≤30 Lf	≤25 Lf	≤20 млрд <i>≤20 B</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	н/у <i>No</i>	≥40 ед <i>≥40 units</i>	≥8 ед <i>≥8 units</i>	≥32 ед <i>≥32 units</i>		
Гексасим® / Hexaxim®, Sanofi Pasteur Ltd	30	10	–	25	25	–	–	12	22–36	10	40	8	32	
Инфанрикс-гекса® / Infanrix™ hexa, GlaxoSmithKline Beecham Plc	25	10	–	25	25	8	–	10	≈ 25	10	40	8	32	
Vaxelis™, MCM Vaccine Co.	15	5	–	20	20	3	5	3 ^d	50 ^d	10	40	8	32	

Примечание: ДА — дифтерийный анатоксин; СА — столбнячный анатоксин; КА — коклюшный анатоксин; ФГА — филаментозный гематоглютинин; ПРН — перт-содержится в вакцине; н/у — не установлены.

Единицы D-антигена вируса полиомиелита: тип 1 (Mahoney), тип 2 (MEF-1), тип 3 (Saukett).

Капсульный полисахарид *Haemophilus influenzae* тип b (ПРФ) конъюгированный с наружным белком мембраны *Neisseria meningitidis* (белок-носитель).

Abbreviations: Hib, *Haemophilus influenzae* type b vaccine; IPV, inactivated poliovirus vaccine; IU, international units; - , not contained in the vaccine; No, no requirements established.

D-antigen units of poliovirus: Type 1 (Mahoney), Type 2 (MEF-1), Type 3 (Saukett).

Haemophilus influenzae type b polysaccharide (PRP) conjugated to meningococcal carrier protein (Neisseria meningitidis).

единицах (МЕ). Для дифтерийного анатоксина этот показатель должен составлять не менее 30 МЕ на дозу и не менее 40 МЕ для столбнячного анатоксина при определении на морских свинках (60 МЕ при оценке на мышах)¹⁶; для цельноклеточного коклюшного компонента — не менее 4 МЕ.

Российские DTwP вакцины отличаются от зарубежных более низким содержанием коклюшного и гепатитного компонентов и дифтерийного анатоксина (табл. 1), но при этом обеспечивают требуемую специфическую активность и низкую реактогенность препарата. Но существует сложность, связанная с тем, что в Российской Федерации количественное содержание СА в препаратах выражают в единицах связывания (ЕС), а не в Lf, которые для этого антигена могут быть не идентичны. Для гармонизации требований к содержанию СА необходимо провести сравнительные испытания активности образцов столбнячных анатоксинов в реакции флокуляции и связывания анитоксина для оценки возможности перехода от ЕС к Lf.

Качество АКДС-вакцины российского производства соответствует требованиям ВОЗ и Европейской фармакопеи. Многолетняя работа сотрудников Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича позволила создать высокоэффективную и безопасную вакцину¹⁷. Важнейшая работа по отбору штаммов *B. pertussis* позволила производить цельноклеточную коклюшную вакцину, содержащую 20 млрд обезвреженных клеток в 1 мл, что в два раза меньше дозы, рекомендованной ВОЗ¹⁸, сохранив при этом защитную активность не менее 4 МЕ в прививочной дозе [24]. Несмотря на отсутствие в DTwP-вакцинах такого иммуностимулятора, как коклюшные клетки, требования к специфической активности для дифтерийного и столбнячного анатоксинов также остались прежними¹⁹.

В Европейской фармакопее в разделе, посвященном маркировке вакцин, указано, что на этикетке вторичной упаковки должен быть приведен состав вакцины в МЕ. В связи с этим многие зарубежные производители на упаковке препарата приводят именно показатель специфической активности ДА и СА в МЕ, а не их

содержание в прививочной дозе, выраженное в Lf. В препаратах российского производства на этикетке вторичной упаковки указывают содержание анатоксинов в Lf и ЕС для ДА и СА соответственно.

Таким образом, информация о настоящем содержании антигенов в некоторых вакцинах для специалистов здравоохранения скрыта. На это обращают внимание регуляторные органы при регистрации препаратов, отдавая предпочтение тем, которые обладают высокой иммуногенностью при минимальном содержании антигена. К таким препаратам, например, относятся российские вакцинные препараты.

Актуальной проблемой в производстве АКДС-вакцины является стандартизация методов, применяющихся для контроля качества вакцин этой группы. Это относится прежде всего к контролю специфической активности антигенов и способам выражения их количественного содержания.

В настоящее время в мире используют разные способы определения специфической активности анатоксинов: традиционные (летальное заражение) и альтернативные (определение антител в сыворотке крови). Способы определения специфической активности ДА и СА основаны на анализе антителообразования в ответ на введение вакцины животным. Определение уровня антител проводят при помощи иммуноферментного анализа, титрования сыворотки на культуре клеток Vero или ингибирования связывания токсина (toxin binding assay). Альтернативные методы находят все большую поддержку в мире, заменяя метод летального заражения, который принят как «золотой стандарт»²⁰. Производители пяти- и шестивалентных вакцин на основе АКДС разрабатывают методы in-house для одновременной оценки специфической активности каждого антигена. Недостаток таких методик заключается в том, что они не стандартизованы в соответствии с международными стандартами, а результаты тестов оценивают в условных единицах на 1 мл для каждого антигена вместо МЕ [32].

Современное производство вакцин уже давно перешло от медицинской бактериологии к биотехнологии. Сложность состава современных вакцин влечет за собой существенные изменения в методах контроля качества как каждого

¹⁶ Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines. WHO; 2013.

¹⁷ Чупринина Р.П. Система измерения и оценки качества коклюшного компонента в АКДС вакцине и проблемы стандартизации этого препарата: дис. ... д-ра мед. Ростов-на-Дону; 1987.

¹⁸ Technical report series, No. 800. WHO; 1992.

¹⁹ Technical report series, No. 979. WHO; 2013.

Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines. WHO; 2013.

²⁰ Manual for quality control of diphtheria, tetanus and pertussis vaccines. WHO; 2013.

отдельного компонента, так и готового продукта. Важным фактором разработки и регистрации комбинированных вакцин на основе АКДС является отсутствие гармонизации нормативных требований к оценке качества, что не позволяет адекватно сравнивать и признавать результаты исследований, полученных разными производителями. Это значительно осложняет регистрацию и продвижение на рынок данных вакцин.

Эффективность цельноклеточной и бесклеточной коклюшных вакцин

Замещение цельноклеточной вакцины на бесклеточную решило проблемы реактогенности, но в то же время явилось причиной формирования недостаточно продолжительного поствакцинального иммунитета в популяции детей и подростков по сравнению с долгосрочной защитой, формирующейся при применении DTwP²¹.

Многие исследования доказали, что бесклеточные вакцины не предотвращают колонизацию возбудителем слизистых дыхательных путей и передачу инфекции, тем самым способствуя ослаблению защитного иммунитета. P. Olin с соавт. предположили, что защита от коклюша сохраняется в течение примерно 5–6 лет после введения третьей дозы DTaP [33]. Вакцины DTaP обеспечивают соответствующую защиту в течение первых лет жизни, которая быстро ослабевает до проведения ревакцинации в возрасте от 4 до 6 лет [34]. Эпидемии коклюша среди полностью вакцинированных детей школьного возраста, получивших только бесклеточную вакцину, вероятно, связаны со снижением иммунитета. Предполагают, что основная проблема снижения эффективности бесклеточных вакцин заключается в неспособности индуцировать оптимальный противокклюшный иммунитет, а не в ослаблении иммунной памяти в подростковом возрасте [35]. S. van der Lee с соавт. [36] показали, что подростки, получившие бесклеточную вакцину, были менее защищены от коклюша по сравнению с теми, кто был вакцинирован цельноклеточной вакциной.

Таким образом, вакцины DTwP показали высокую эффективность в течение сравнительно короткого периода наблюдения. Постоянный мониторинг в течение >25 лет показал, что существующие DTaP и программы

вакцинации не способны контролировать заболеваемость коклюшем на должном уровне. В последние годы отмечается значительный рост числа лабораторно подтвержденных случаев коклюша среди подростков и взрослых²², а также распространение стертых форм заболевания. Повысилась частота выявления бессимптомного носительства бактерий *B. pertussis*, что является причиной увеличения числа стертых форм заболевания и формирования бактерионосительства [37].

Существующие вакцины DTaP не способны стимулировать образование CD4⁺ Т-клеток и индуцировать синтез иммуноглобулина А слизистой оболочки дыхательных путей, в то время как DTwP способны стимулировать образование пролонгированных эффекторных В-клеток памяти и генерации Th1/Th17 Т-клеток²³.

Вакцины DTaP и DTwP имеют разные профили безопасности. Применение DTwP может вызывать более неблагоприятные местные (покраснение, отек, боль в месте инъекции) и системные (лихорадка, постоянный плач) реакции, но не приводит к развитию таких серьезных явлений, как фебрильные судороги, энцефалопатия, синдром внезапной детской смерти и синдром Рея. Многочисленные клинические исследования и мониторинг безопасности вакцин на постмаркетинговой стадии доказали отсутствие подобной связи.

Перспективы применения комбинированных АКДС-вакцин

DTwP является высокоэффективной вакциной, однако в силу наличия в бактериальной клетке *B. pertussis* набора токсинов ей свойственна реактогенность, что ограничивает ее использование. DTaP является слабореактогенным препаратом, но обладает недостаточной эффективностью. В этой связи для осуществления оптимального контроля над заболеванием и снижения риска развития тяжелой инфекции требуется обновление ассортимента коклюшных вакцин. Поэтому основная цель совершенствования качества коклюшных вакцин заключается в снижении реактогенности DTwP и повышении эффективности DTaP.

Исследователи обсуждают следующие варианты повышения эффективности DTaP:

²¹ <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/242416/WER9035-rus.pdf?sequence=40&isAllowed=y>

²² <https://www.cdc.gov/pertussis/php/surveillance/index.html>
<https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=51>
<https://immunizationdata.who.int/global/wiise-detail-page/pertussis-reported-cases-and-incidence?CODE=Global&YEAR=>
<https://www.gov.uk/government/publications/pertussis-epidemiology-in-england-2024/confirmed-cases-of-pertussis-in-england-by-month>
<https://fedstat.ru>

²³ <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/242416/WER9035-rus.pdf?sequence=40&isAllowed=y>

- применение DТaР в качестве моновакцины для проведения более частых ревакцинаций [38] (данный вариант не оптимален, учитывая высокую стоимость бесклеточной коклюшной вакцины и необходимость частых посещений врача);
- модификация антигенов в существующих DТaР вакцинах (при сохранении антигенного состава есть возможность увеличения содержания коклюшного анатоксина или изменения метода детоксикации токсина) [39];
- добавление в вакцину новых дополнительных антигенов [40];
- замена используемых адъювантов на основе соединений алюминия новыми, что может привести к изменению типа иммунного ответа и баланса Th1/Th2/Th17, увеличению продолжительности защиты [41] и снижению интерференции антигенов;
- изменение системы доставки антигенов (интраназальный путь введения [42–44]).

Интраназальное введение живого аттенуированного штамма *B. pertussis* способно стимулировать другой тип иммунного ответа, включая иммунитет слизистых оболочек. Разработаны вакцины, содержащие живой аттенуированный штамм *B. pertussis*: BPZE1 [43, 44] – за рубежом и ГамЖВК [42, 45] – в Российской Федерации. Вакцины для интраназального введения²⁴, а также вакцины на основе генетически инактивированного коклюшного токсина²⁵ проходят клинические исследования.

Эпидемия дифтерии в конце прошлого столетия в нашей стране стимулировала разработку вакцины Кодивак, которая формировала антибактериальный иммунитет, а не антитоксический, как все современные вакцины. Вакцина содержала антигены клеточных стенок нетоксигенного штамма коринебактерий дифтерии и предназначалась для лечения носителей токсигенных коринебактерий с семилетнего возраста. Препарат

прошел доклинические и клинические исследования [46, 47], но дальнейшая разработка была приостановлена. В перспективе можно ожидать продолжения исследований [48], поскольку проблема бактерионосительства при дифтерийной инфекции остается до конца не решенной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Динамичное развитие вакцинных технологий привело к созданию новых комбинированных вакцин на основе АКДС. Они представляют собой высокоэффективные и безопасные препараты, а перспективные разработки АКДС-вакцин будут в ближайшее время востребованы вследствие роста заболеваемости коклюшной инфекцией во всем мире.

Нерешенными остаются проблемы, связанные как со стандартизацией производства, так и с поддержанием высокого уровня специфической активности и безопасности многокомпонентных АКДС-вакцин, особенно принимая во внимание трудности международного обмена вакцинами и лицензиями, а также регистрации вакцин.

К настоящему времени специалисты ВОЗ подготовили несколько десятков рекомендаций (WHO Technical Report Series) для национальных регуляторных органов, касающихся различных сторон производства и контроля вакцин. Следование рекомендациям позволит гармонизировать подходы к контролю качества вакцин, что упростит их регистрацию и увеличит доступность вакцинных препаратов на мировом рынке.

Проблема стандартизации производства АКДС-вакцин, несмотря на многолетний опыт их применения, все еще до конца не решена. В Российской Федерации для комбинированных АКДС-вакцин приняты национальные нормативные требования, которые не в полной мере гармонизированы с требованиями ВОЗ.

Литература/References

1. Оффит ПА. *Смертельно опасный выбор*. М.: Corpus; 2022. Offit PA. *Deadly Choices*. Moscow: Corpus; 2022 (In Russ.).
 2. Szejser-Zawislak E, Wilk MM, Piszczek P, Krawczyk J, Wilczyńska D, Hozbor D. Evaluation of whole-cell and acellular pertussis vaccines in the context of long-term herd immunity. *Vaccines (Basel)*. 2023;11(1):1. <https://doi.org/10.3390/vaccines11010001>
 3. Eberhardt C, Siegrist C. What is wrong with pertussis vaccine immunity? Inducing and recalling vaccine-specific immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(12):a029629. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029629>
 4. Prevost B, Nathan N, Corvol H. Letter to the editor: Is the acellular pertussis vaccine driving the increase in severe whooping cough cases in children? *Euro Surveill*. 2024;29(37):2400574. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2024.29.37.2400574>
 5. Klein NP. Licensed pertussis vaccines in the United States. *Hum Vaccin Immunother*. 2014;10(9):2684–90. <https://doi.org/10.4161/hv.29576>
 6. Plotkin SL, Plotkin SA. A short history of vaccination. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, Edwards KM, eds. *Plotkin's Vaccines*. 7th ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2018. P. 1–15.
 7. Tejpratap SP, Wharton T, Wharton M. Diphtheria toxoid. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, Edwards KM, eds. *Plotkin's Vaccines*. 7th ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2018. P. 261–75.
- ²⁴ <https://clinicaltrials.gov/search?term=intranasal%20pertussis%20vaccine>
<https://www.ih.europa.eu/news-events/newsroom/periscope-model-accelerates-development-new-pertussis-vaccine>
<https://clinicaltrials.gov/study/NCT03035370?term=pertussis%20vaccine&page=2&rank=18>
- ²⁵ <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05193734>

8. Stuart G. Diphtheria incidence in European countries. *Br Med J*. 1945;2(4426):613–5. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.4426.613>
9. Kaufmann SH. Remembering Emil von Behring: From tetanus treatment to antibody cooperation with phagocytes. *mBio*. 2017;8(1):e00117–17. <https://doi.org/10.1128/mBio.00117-17>
10. Wever PC, van Bergen L. Prevention of tetanus during the First World War. *Med Humanit*. 2012;38(2):78–82. <https://doi.org/10.1136/medhum-2011-010157>
11. Edwards KM, Decker MD. Pertussis vaccines. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, Edwards KM, eds. *Plotkin's Vaccines*. 7th ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2018. P. 711–61.
12. Kuchar E, Karlikowska-Skwarnik M, Han S, Nitsch-Osuch A. Pertussis: History of the disease and current prevention failure. *Adv Exp Med Biol*. 2016;934:77–82. https://doi.org/10.1007/5584_2016_21
13. Cherry JD. The 112-year odyssey of pertussis and pertussis vaccines — mistakes made and implications for the future. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2019;8(4):334–41. <https://doi.org/10.1093/jpids/piz005>
14. Marks HM. The Kendrick-Eldering-(Frost) pertussis vaccine field trial. *J R Soc Med*. 2007;100(5):242–7. <https://doi.org/10.1177/014107680710000516>
15. Shapiro-Shapin CG. Pearl Kendrick, Grace Eldering, and the pertussis vaccine. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(8):1273–8. <https://doi.org/10.3201/eid1608.100288>
16. Kendrick P, Eldering G. Progress report on pertussis immunization. *Am J Public Health Nations Health*. 1936;26(1):8–12. <https://doi.org/10.2105/ajph.26.1.8>
17. Gangarosa EJ, Galazka AM, Wolfe CR, Phillips LM, Gangarosa RE, Miller E, Chen RT. Impact of anti-vaccine movements on pertussis control: The untold story. *Lancet*. 1998;351(9099):356–61. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)04334-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)04334-1)
18. Prygiel M, Mosiej E, Gorrska P, Zasada A. Diphtheria-tetanus-pertussis vaccine: Past, current & future. *Future Microbiol*. 2022;17:185–97. <https://doi.org/10.2217/fmb-2021-0167>
19. Sato Y, Kimura M, Fukumi H. Development of a pertussis component vaccine in Japan. *Lancet*. 1984;1(8369):122–6. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(84\)90061-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(84)90061-8)
20. Greco D, Salmaso S, Mastrantonio P, Giuliano M, Tozzi AE, Anemona A, et al. A controlled trial of two acellular vaccines and one whole-cell vaccine against pertussis. Progetto Pertosse Working Group. *N Engl J Med*. 1996;334(6):341–8. <https://doi.org/10.1056/NEJM199602083340601>
21. Комаровская ЕИ, Перельгина ОВ. Современное состояние методов оценки безопасности и эффективности дифтерийного и столбнячного компонентов комбинированных вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022;21(3):96–106. Komarovskaya EI, Perelygina OV. Current state of methods for control the safety and potency of diphtheria toxoid and tetanus toxoid in combined vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(3):96–106 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-3-96-106>
22. Prygiel M, Mosiej E, Wdowiak K, Rabczenko D, Zasada AA. Adjuvant effect of whole-cell pertussis component on tetanus toxoid potency in murine model. *Biomedicines*. 2023;11(7):1795. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11071795>
23. Перельгина ОВ, Алексеева ИА. Безопасность комбинированных вакцин с цельноклеточным коклюшным компонентом. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016;15(6):62–9. Perelygina OV, Alekseeva IA. Safety of combination vaccines with whole cell pertussis component. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2016;15(6):62–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-6-62-69>
24. Алексеева ИА, Чупринина РП, Борисова ВН. Сравнительный анализ безопасности и эффективности отечественных и зарубежных комплексных вакцин, содержащих цельноклеточную коклюшную вакцину. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2012;(3):48–54. Alekseeva IA, Chuprinina RP, Borisova VN. Comparative analysis of safety and effectiveness of domestic and foreign complex vaccines containing whole-cell pertussis vaccine. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2012;(3):48–54 (In Russ.). EDN: OZINNB
25. Skibinski DA, Baudner BC, Singh M, O'Hagan DT. Combination vaccines. *J Glob Infect Dis*. 2011;3(1):63–72. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.77298>
26. Шамшева ОВ. Эволюция национального календаря профилактических прививок. Результаты и перспективы. *Детские инфекции*. 2022;21(1):5–15. Shamsheva OV. Evolution of the national vaccination calendar. Results and prospects. *Children Infections*. 2022;21(1):5–15 (In Russ.). <https://doi.org/10.22627/2072-8107-2022-21-1-5-15>
27. Намазова-Баранова ЛС, Федосеенко МВ, Баранов АА. Новые горизонты Национального календаря профилактических прививок. *Вопросы современной педиатрии*. 2019;18(1):13–30. Namazova-Baranova LS, Fedoseenko MV, Baranov AA. New horizons of National Immunization Calendar. *Current Pediatrics*. 2019;18(1):13–30 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vsp.v18i1.1988>
28. Kurosky SK, Davis KL, Krishnarajah G. Effect of combination vaccines on completion and compliance of childhood vaccinations in the United States. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(11):2494–502. <https://doi.org/10.1080/21645515.2017.1362515>
29. Marshall GS, Petigara T, Liu Z, Wolfson L, Johnson D, Goveia MG, et al. Timing of monovalent vaccine administration in infants receiving DTaP-based combination vaccines in the United States. *Pediatr Infect Dis J*. 2022;41(9):775–81. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000003609>
30. Marshall GS, Happe LE, Lunacek OE, Szymanski MD, Woods CR, Zahn M, et al. Use of combination vaccines is associated with improved coverage rates. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(6):496–500. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31805d7f17>
31. Гаврилова НА, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, Бондарев ВП, Рычихина ЕМ, Обухов ЮИ. Взаимозаменяемость вакцин: проблемы и перспективы. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(3):142–157. Gavrilova NA, Olefir YuV, Merkulov VA, Bondarev VP, Rychikhina EM, Obukhov Yul. Vaccine interchangeability: Problems and prospects. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(3):142–57 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-3-142-157>
32. Bandiera S, Lebas A, Canizares-Martinello L, Guinchard F, Lyonais C, Perrin S, et al. A single immunogenicity assay for testing potency of combination DTaP vaccines: Simultaneous quantitation of anti-DT, anti-TT, anti-PTx and anti-FHA antibodies in Guinea-pig serum with a Lumindex®-xMAP® bead-based serological assay. *Biologicals*. 2019;61:15–21. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2019.08.002>
33. Olin P, Gustafsson L, Barreto L, Hessel L, Mast TC, Rie AV, et al. Declining pertussis incidence in Sweden following the introduction of acellular pertussis vaccine. *Vaccine*. 2003;21(17–18):2015–21. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00777-6](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00777-6)
34. Quinn HE, Snelling TL, Macartney KK, McIntyre PB. Duration of protection after first dose of acellular pertussis vaccine in infants. *Pediatrics*. 2014;133(3):e513–9. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3181>
35. Eberhardt C, Siegrist C. What is wrong with pertussis vaccine immunity? Inducing and recalling vaccine-specific immunity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2017;9(12):a029629. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029629>
36. van der Lee S, Hendrikx LH, Sanders EAM, Berbers GAM, Buisman AM. Whole-cell or acellular pertussis primary immunizations in infancy determines adolescent cellular immune profiles. *Front Immunol*. 2018;9:51. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00051>
37. Басов АА, Высочанская СО, Цвиркун ОВ, Белова ТР, Адугозлов СЭ, Жернов ЮВ и др. Критерии оценки эпидемиологической ситуации по коклюшу в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2024;23(1):4–13. Basov AA, Vysochanskaya SO, Adugozlov SE, Zernov YV and dr. Criteria of assessment of epidemiological situation by whooping cough in the Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2025, V. 25, No. 1

- Tsvirkun OV, Belova TR, Aduguzelov SE, Zhernov YuV, et al. Criteria for assessing the epidemiological situation of pertussis in Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(1):4–13 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13>
38. Libster R, Edwards KM. Re-emergence of pertussis: What are the solutions? *Expert Rev Vaccines*. 2012;11(11):1331–46. <https://doi.org/10.1586/erv.12.118>
 39. Meade BD, Plotkin SA, Locht C. Possible options for new pertussis vaccines. *J Infect Dis*. 2014;209(S1):24–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit531>
 40. Locht C, Mielcarek N. New pertussis vaccination approaches: Enroute to protect newborns? *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2012;66(2):121–33. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00988.x>
 41. Polewicz M, Gracia A, Garlapati S, van Kessel J, Strom S, Halperin SA, et al. Novel vaccine formulations against pertussis offer earlier onset of immunity and provide protection in the presence of maternal antibodies. *Vaccine*. 2013;31(31):3148–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.008>
 42. Джидарян АА, Матуа АЗ, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Дьяков ИН и др. Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян вида павиан гамадрил. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(2):203–14. Djidaryan AA, Matua AZ, Medkova AYU, Semin EG, Sinyashina LN, Dyakov IN, et al. Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine Gam-LPV in the experimental infant hamadryas baboon model. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022;99(2):203–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>
 43. Keech C, Miller VE, Rizzardi B, Hoyle Ch, Pryor MJ, Ferand J, et al. Immunogenicity and safety of BPZE1, an intranasal live attenuated pertussis vaccine, versus tetanus-diphtheria–acellular pertussis vaccine: A randomised, double-blind, phase 2b trial. *Lancet*. 2023;401(10379):843–55. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02644-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02644-7)
 44. Lin A, Apostolovic D, Jahnmatz M, Liang F, Ols S, Tecleab T, et al. Live attenuated pertussis vaccine BPZE1 induces a broad antibody response in humans. *J Clin Invest*. 2020;130(5):2332–46. <https://doi.org/10.1172/JCI135020>
 45. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Сюндюкова РА, Дьяков ИН и др. Клинические исследования безопасности переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):114–9. Medkova AYU, Lidzhiyeva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Sioundioukova RA, Dyakov IN, et al. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Drug Development & Registration*. 2021;10(1):114–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119>
 46. Шмелева ЕА, Вершинин АЕ, Андина СС. Метабиотический препарат из симбионтных коринебактерий: профилактика и лечение. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019;18(4):59–66. Shmeleva EA, Vershinin AE, Andina SS. Metabiotic medicine of symbiotic corynebacteria: Prevention, treatment and immunological safety. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2019;18(4):59–66 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2019-18-4-59-66>
 47. Еремина ОФ, Ющук НД, Шмелева ЕА. Влияние противодифтерийной бактериальной вакцины Кодивак на результаты санации иммунный статус бактерионосителей *C. diphtheriae* tox+. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2007;(2):55–9. Eremina OF, Yushchuk ND, Shmeleva EA. Diphtheriae tox+. The influence of diphtheria vaccine Codivac on sanitation results and immune status of *C. diphtheriae* tox+ carriers. *Epidemiology and Vaccination*. 2007;(2):55–9 (In Russ.). EDN: HEPWNR
 48. Шмелева ЕА, Мелехова АВ, Сафронова АВ. Популяционные и эпидемиологические аспекты носительства токсигенных (*Cd* tox+) и нетоксигенных (*Cd* tox-) коринебактерий дифтерии (*C. diphtheriae*). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2023;22(3):85–92. Shmeleva EA, Melekhova AV, Saphronova AV. Population and epidemiological aspects of carriage of toxigenic (*Cd* tox+) and non-toxicogenic (*Cd* tox-) diphtheria corynebacteria. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2023;22(3):85–92 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-3-85-92>

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещена таблица S1. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96-table-S1>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Е.И. Комаровская** — идея исследования, написание текста рукописи, формулировка выводов исследования; **О.В. Проскурина** — сбор и систематизация данных литературы, оформление таблиц и данных литературы; **А.А. Солдатов** — концепция и дизайн исследования.

Additional information. Table S1 is published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-83-96-table-S1>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **E.I. Komarovskaya** conceived the study idea, drafted the manuscript, and formulated the conclusions. **O.V. Proskurina** collected and collated literature data, formatted tables and references. **A.A. Soldatov** conceptualised and designed the study.

Об авторах / Authors

Комаровская Елена Игоревна / Elena I. Komarovskaya

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9035-6072>

Проскурина Ольга Владимировна / Olga V. Proskurina

ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1937-4946>

Солдатов Александр Алексеевич, д-р мед. наук / Aleksandr A. Soldatov, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6624-2692>

Поступила 16.08.2024

После доработки 05.02.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 16 August 2024

Revised 5 February 2025

Accepted 21 March 2025

УДК 615.07:615.45:60

<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110>

Научно-методическая статья | Scientific methodology article



Вода для инъекций: мировые тренды в фармакопейной оценке качества и российская экспертная практика

С.М. Суханова, А.А. Семенов , Н.М. Минаева

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

 Семенов Андрей Александрович; semenovaa@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Высокие требования к качеству стерильной воды для инъекций (СВДИ) диктуются необходимостью гарантировать безопасность и эффективность применения инъекционных лекарственных средств и прежде всего биологических лекарственных препаратов, поскольку присутствие в растворителе примесей, главным образом микробных контаминантов, эндотоксинов или тяжелых металлов, может вызывать серьезные побочные эффекты. Определение наиболее перспективных подходов к оценке качества воды для инъекций при разработке нормативных требований в регуляторной системе Евразийского экономического союза (ЕАЭС) представляется актуальной задачей.

ЦЕЛЬ. Анализ основных трендов в оценке качества растворителя лекарственных средств — воды для инъекций.

ОБСУЖДЕНИЕ. Проведен сравнительный ретроспективный анализ требований к оценке качества воды для инъекций ведущих фармакопей мира, в том числе Государственной фармакопеи Российской Федерации, Фармакопеи США, Японской, Европейской, Британской, Индийской и Китайской фармакопей, а также анализ рекомендаций ИСН и Фармакопейной дискуссионной группы. Показано, что в последнее десятилетие подход зарубежных фармакопей к контролю органических и неорганических примесей в воде для инъекций претерпел значительные изменения в отношении как аналитических методов, так и количества тестов. Отмечено, что в Европейской фармакопее в 2024 г. произошли наиболее значительные изменения в отношении оценки качества готовой лекарственной формы СВДИ. Рассмотрена возможность оптимизации процедуры контроля за счет сокращения и замены десяти качественных методов анализа неорганических примесей на количественное измерение электропроводности. Описаны данные, касающиеся замены теста на наличие органических примесей на количественный метод анализа показателя «Общий органический углерод». Представлен анализ результатов испытательного центра ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России по контролю 148 серий готовой лекарственной формы СВДИ, выпускаемой в комплекте с биологическими лекарственными препаратами 38 российских и зарубежных производителей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Обновленные требования к оценке качества воды для инъекций и стерильной воды для инъекций, принятые в действующем издании Европейской фармакопеи (07/2024:0169), могут быть использованы при подготовке соответствующего стандарта в рамках фармакопеи стран ЕАЭС, а также для актуализации фармакопейной статьи «Вода для инъекций» Государственной фармакопеи Российской Федерации. Это будет способствовать оптимизации процедур оценки качества, повышению скорости и точности анализа, снижению финансовых и трудовых затрат, что обеспечит повышение качества как растворителя, так и лекарственных препаратов, в комплекте с которыми он выпускается. Введение в действие этих требований будет содействовать гармонизации фармакопейных требований, обеспечивая установление единых критериев оценки качества воды для инъекций как для российских, так и для зарубежных производителей, что позволит

уменьшить регуляторные барьеры и облегчит выход готовой формы растворителя на международные рынки.

Ключевые слова: стерильная вода для инъекций; оценка качества; электропроводность; общий органический углерод; примеси; фармакопейные требования

Для цитирования: Суханова С.М., Семенов А.А., Минаева Н.М. Вода для инъекций: мировые тренды в фармакопейной оценке качества и российская экспертная практика. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(1):97–110. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022200103-5).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Water for injections: Global trends in pharmacopoeial quality assessment and Russian expert practice

Svetlana M. Sukhanova, Andrey A. Semenov , Natalia M. Minaeva

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

 Andrey A. Semenov; semenovaa@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. High quality standards for sterilised water for injections arise from the need to guarantee the safety and effectiveness of injectable medicines, especially biologicals, since the presence of impurities in the solvent (mainly microbial contaminants, endotoxins, and heavy metals) can lead to serious adverse drug reactions. Therefore, it is important to determine the most promising approaches to assessing the quality of water for injections to develop the regulatory requirements for the Eurasian Economic Union (EAEU).

AIM. This study aimed to analyse key trends in the quality assessment of water for injections used as a solvent for medicinal products.

DISCUSSION. This study involved a retrospective comparison of the quality control requirements for water for injections established by the world's major pharmacopoeias, including the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, the United States Pharmacopoeia, the Japanese Pharmacopoeia, the European Pharmacopoeia, the British Pharmacopoeia, the Indian Pharmacopoeia, and the Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Additionally, the comparison included recommendations by the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use and the Pharmacopoeia Discussion Group. The past decade witnessed significant changes in the approach of international pharmacopoeias to the control of organic and inorganic impurities in water for injections, both in terms of analytical procedures and in terms of the number of tests required. According to the comparison, the most significant changes to the quality control requirements for sterilised water for injections in the finished dosage form were introduced by the European Pharmacopoeia in 2024. The authors considered the possibility to streamline the quality control procedure by reducing the number of tests and replacing the currently required ten qualitative tests for inorganic impurities with a single quantitative determination of electrical conductivity. This article describes the replacement of the test for organic impurities with a quantitative test for total organic carbon. Furthermore, this article presents the quality control results obtained at the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation for 148 batches of sterilised water for injections supplied with biologicals produced by 38 Russian and international manufacturers.

CONCLUSIONS. The current requirements of the revised monograph for water for injections and sterilised water for injections of the European Pharmacopoeia (07/2024:0169) may inform drafting a relevant compendial standard for the EAEU and updating the monograph for water for injections of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. This will help optimise the quality control procedures, increase the speed and accuracy of testing, and reduce financial and labour costs, which will improve the quality of the solvent and the associated medicinal products. The adoption of these requirements will contribute to pharmacopoeial harmonisation by setting uniform quality control criteria for water for injections for both national and international manufacturers, which will reduce regulatory barriers and facilitate the entry of the solvent dosage form into international markets.

Keywords: sterilised water for injections; quality assessment; conductivity; total organic carbon; impurities; pharmacopoeial requirements

For citation: Sukhanova S.M., Semenov A.A., Minaeva N.M. Water for injections: Global trends in pharmacopoeial quality assessment and Russian expert practice. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):97–110. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D reporting No. 124022200103-5).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее универсальных и широко используемых в медицинской практике растворителей лекарственных средств (ЛС) для парентерального введения является стерильная (стерилизованная) вода для инъекций. Стерильная вода для инъекций производится из воды для инъекций (ВДИ) путем стерилизации в условиях, обеспечивающих соответствие требованиям по показателю «Бактериальные эндотоксины», и представляет собой промежуточный нерасфасованный продукт, который пригоден для применения в качестве ингредиента в составе лекарственных препаратов. В настоящее время в соответствии с требованиями фармакопей большинства стран мира ВДИ получают из воды питьевой или из воды, очищенной путем дистилляции или других эквивалентных методов очистки, таких как обратный осмос, ультрафильтрация, нанофильтрация или их комбинация. Вода, полученная таким способом, не должна содержать нежелательные примеси, такие как бактерии, вирусы, пирогенные вещества, тяжелые металлы, органические вещества и другие потенциально опасные соединения [1, 2]. Конечной готовой лекарственной формой, выпускаемой в ампулах или флаконах в виде самостоятельного препарата или в комплекте с лекарственным средством, является фасованная стерильная вода для инъекций (СВДИ). Строгие требования к качеству СВДИ обусловлены необходимостью обеспечения безопасности и эффективности инъекционных ЛС. Присутствие в растворителе примесей, в первую очередь микробных контаминантов, эндотоксинов или тяжелых металлов,

может привести к серьезным побочным эффектам, таким как инфекции, аллергические реакции и токсические поражения организма. Примеси могут взаимодействовать с компонентами лекарственного вещества, снижая его эффективность или повышая риск нежелательных реакций. Это особенно критично для качества иммунобиологических препаратов.

Учитывая, что нормирование примесей в воде для инъекций имеет существенное значение в обеспечении безопасности и эффективности инъекционных лекарственных средств, используемых в фармакотерапии и для иммунопрофилактики, качество готовой лекарственной формы СВДИ в большинстве стран регламентируется фармакопейными требованиями, предусматривающими испытания на соответствие установленным предельным значениям. В фармакопеях регламентированы требования к предельно допустимому содержанию примесей отдельно для ВДИ и для СВДИ [3, 4]. Ранее авторами данной статьи было проведено изучение требований к качеству СВДИ, установленных Государственной фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ), фармакопеей стран Евразийского экономического союза (ЕАЭС), а также другими ведущими фармакопеями мира [5]. Проведенный анализ показал, что требования к оценке качества СВДИ различаются по перечню показателей и методам контроля — для оценки качества ВДИ использовалось от 12 до 18 различных тестов, основанных преимущественно на качественных химических реакциях. Однако в последние годы требования к оценке качества ВДИ активно пересматриваются

зарубежными регуляторными органами. Это связано с тем, что полный анализ с использованием большого числа тестов является трудоемким процессом. Кроме того, традиционные химические тесты, как правило, носят качественный характер и их результаты зависят от субъективной оценки исследователя [6].

В условиях глобализации мирового фармацевтического рынка особенно актуальной становится гармонизация регуляторных требований и создание унифицированных стандартов качества ЛС. В настоящее время в нормативной и правовой документации Российской Федерации отсутствует национальный фармакопейный стандарт на СВДИ, вследствие чего проблемы, связанные с экспертизой и оценкой качества воды, остаются нерешенными [5]. Применение методических документов, имеющих рекомендательный характер, неправомерно, так как в рамках фармацевтического законодательства они не обладают юридической силой¹. Отсутствие нормативного документа в правовом поле ЕАЭС обуславливает разнообразие подходов со стороны производителей к выбору показателей, что усложняет процедуру оценки при регистрации как самого растворителя, так и лекарственного препарата, выпускаемого в комплекте. В рамках формирования единого рынка лекарственных средств ЕАЭС планируется введение соответствующего стандарта², в связи с чем актуален поиск перспективных направлений для разработки гармонизированных фармакопейных требований ЕАЭС к оценке качества ВДИ.

Цель работы – анализ основных трендов в оценке качества растворителя лекарственных средств – воды для инъекций.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

– ретроспективный анализ изменений требований российских и международных

регуляторных органов к оценке качества ВДИ;

- определение основных направлений усовершенствования процедуры контроля органических и неорганических примесей в СВДИ;
- оценка практического использования новых подходов для контроля наличия неорганических примесей в растворителе ЛС – стерильной воде для инъекций.

Для решения поставленных задач в работе использовали материалы ведущих фармакопей мира, включая монографии ГФ РФ XV изд., Европейской³ и Британской фармакопей⁴, Фармакопей США⁵, Японии⁶, Индии⁷, Китая⁸, а также руководств Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA)⁹, Международного совета по гармонизации технических требований к лекарственным средствам для медицинского применения (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH¹⁰) [7], рекомендаций Коллегии ЕАЭС¹¹, регламентирующих требования к оценке качества воды для инъекций.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Основания для изменения подходов к оценке качества воды для инъекций

Первоначальное решение о необходимости перехода от использования качественных химических тестов к современным количественным методам анализа примесей в ВДИ при сохранении существующих требований к качеству было принято после обсуждения в Ассоциации фармацевтических исследований и производителей Америки (Pharmaceutical Research and Manufacturers of America, PhRMA) и Экспертном комитете по качеству воды (Water Quality Committee, WQC)¹². В качестве замены устаревшим преимущественно качественным химическим тестам были предложены два основных

¹ Руководство по качеству воды для применения в фармации. Методические рекомендации. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. Письмо от 03.02.2010 № 05-МС-035.

² Федеральный закон от 31.01.2016 № 5-ФЗ «О ратификации Соглашения о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза».

³ 0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 1997.

0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 11th ed. Suppl.11.5; 2024.

⁴ 04/2024:0169 Water for injections (incorporating from Ph. Eur. Suppl. 11.4). British Pharmacopoeia. Vol. 1; 2024.

⁵ Water for injection. United State Pharmacopoeia. USP22–NF17; 1990.

Water for injection. United State Pharmacopoeia. USP47–NF42; 2024.

⁶ Water for injection. Japanese Pharmacopoeia. 18th ed. English version; 2021.

⁷ Water for injection. Indian Pharmacopoeia. Ed. 2022. English version; 2022.

⁸ Water for injection. Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China. Vol. II; 2020.

⁹ Guideline on the quality of water for pharmaceutical use (EMA/CHMP/CVMP/QWP/496873/2018). EMA; 2021.

¹⁰ <https://www.ich.org/>

¹¹ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13.12.2017 № 31 «О Требованиях к воде для фармацевтического применения, используемой для производства лекарственных средств».

¹² Stimuli to the revision process: Updating requirements for pharmaceutical grades of water: Conductivity. Pharmacopeial Forum. 1991;(11–12):2669–75.

показателя: «Электропроводность»¹³ и «Общий органический углерод», ООУ (Total Organic Carbon, TOC)¹⁴.

Замена показателей «Диоксид углерода», «Хлориды», «Кальций», «Сульфаты», «Аммоний».

Известно, что величина электропроводности водных растворов зависит от содержания ионов солей и минералов, преимущественно неорганических соединений. Для оценки электропроводности WQC была разработана упрощенная модель, основанная на расчетах значения электропроводности при 25 °С химической системы, включающей пять ионов: диоксида углерода, хлорида, кальция, сульфата и аммония [6]. Это позволило определить максимальное значение электропроводности при максимальном допустимом содержании каждого иона, выявляемого посредством качественной реакции и создающего наименьшую электропроводность. В присутствии хлорид-ион показана наименьшая электропроводность при предельной концентрации 0,47 ppm. При дальнейшем исследовании было установлено, что химическая модель хлорида не всегда обеспечивает самую низкую электропроводность. Поэтому для определения предельных значений электропроводности первого этапа испытаний была выбрана гибридная модель «хлорид-аммиак».

В Фармакопее США¹⁵ было установлено предельное значение электропроводности ВДИ для первого этапа испытания при 25 °С – 1,3 мкСм/см, учитывающего вклад хлоридов, кальция, сульфатов и аммония. Далее было показано, что присутствие диоксида углерода в системах водоочистки, приводящее к образованию угольной кислоты в концентрациях в несколько сотен ppm, также увеличивает электропроводность. Однако даже в случае минимальной теоретически возможной концентрации диоксида углерода (300 ppm) электропроводность увеличивается на 0,8 мкСм/см, что является максимальным пределом значения электропроводности воды, которое было установлено для второго этапа испытания (не более 2,1 мкСм/см).

Кроме того, было отмечено, что при автономном тестировании существенную роль при определении электропроводности водных растворов играет pH среды, значение которого, в свою очередь, зависит от количества примесей хлорид-ионов, формы аммиака (молекулярной

или ионной) и концентрации растворенного диоксида углерода. В связи с этим на объединенной модели «хлорид-аммиак» были проведены расчеты пределов электропроводности для автономного тестирования (при 25 °С). При этом учитывали, что хлоридная модель обеспечивает наименьшую проводимость ниже pH 6,2, а присутствие аммония обеспечивает наименьшую проводимость выше pH 6,2. В результате минимальная электропроводность с учетом соответствующего уровня pH при испытании на этапе 3 составила 2,1 мкСм/см, что является пределом для этапа 2, а максимальная – 4,7 мкСм/см [6].

Таким образом, было показано, что теоретически возможное минимальное содержание примесей диоксида углерода, хлорида, кальция, сульфата и аммония при допустимом значении pH в ВДИ создает электропроводность в пределах регламентированных фармакопеями значений и позволяет заменить ряд отдельных тестов одним – измерением электропроводности в режиме реального времени, а также при автономном тестировании.

Замена показателя «Тяжелые металлы».

Рассмотрение вопроса об исключении показателя «Тяжелые металлы» проводилось WQC с позиции того, что материалы современных систем водоподготовки не выделяют тяжелые металлы и результаты тестов по оценке данного показателя всегда были отрицательными. Кроме того, было учтено, что в соответствии с Национальными правилами по питьевой воде (National Primary Drinking Water Regulations) требования к исходной воде питьевой являются более строгими, чем требования, установленные в отношении наличия органических и неорганических примесей, радионуклидов, микроорганизмов, а также некоторых потенциально опасных для здоровья человека тяжелых металлов для ВДИ¹⁶.

Согласно Фармакопее США¹⁷ и Европейской фармакопее¹⁸ предел обнаружения для качественной реакции по показателю «Тяжелые металлы» составлял 0,1 ppm. Поэтому для протекания химической реакции концентрацию тяжелых металлов в образце увеличивали путем выпаривания образца примерно в 10 раз до 1 ppm. Однако даже в случае тестирования образцов, содержащих ионы свинца в 10 раз меньше допустимого уровня (0,01 ppm), или 0,1 ppm, значение электропроводности уже

¹³ In-process revision: General chapter <645> Water conductivity. Pharmacopoeial Forum. 1996;22(1):1844–9.

¹⁴ Total organic carbon. United State Pharmacopeia. USP 23-NF18, Suppl. 5; 1995.

¹⁵ Water for injection. United State Pharmacopeia. USP23–NF18, Suppl. 8; 1998.

¹⁶ Water for pharmaceutical purposes / Chemical considerations. United State Pharmacopeia. USP29–NF24; 2004.

¹⁷ Heavy metals. United State Pharmacopeia. USP22–NF17; 1990.

¹⁸ 2.4.8 Heavy metals test, Method A. European Pharmacopoeia. 4th ed. Suppl. 4.2; 2002.

превышало нормативное значение для первого этапа контроля ВДИ (1,3 мкСм/см) и составило в среднем 1,6 и 5–7 мкСм/см соответственно [8]. Таким образом, было обосновано, что измерение электропроводности в образцах ВДИ обладает более высокой чувствительностью, чем качественная реакция.

Замена показателя «рН». На модели «хлорид-аммиак», учитывающей взаимное влияние ионов, было показано, что образцы ВДИ, соответствующие требованиям по электропроводности, также удовлетворяют требованию по показателю «рН» (5,0–7,0)¹⁹. Учитывая, что ВДИ не обладает выраженными буферными свойствами, а измерение рН является малоинформативным, в большинстве фармакопей этот тест признан избыточным. Поэтому при наличии испытания на электропроводность оценку качества по данному показателю, как правило, не проводят. Однако при автономном тестировании, если образец не соответствует критериям на первом и/или втором этапах по электропроводности, на третьем этапе определяют величину «рН».

Замена показателей «Нитраты», «Кислотность и щелочность». При рассмотрении Европейским директором по качеству лекарственных средств и здравоохранения (European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM)²⁰ вопроса оптимизации оценки качества ВДИ были представлены дополнительные данные, подтверждающие, что образцы, соответствующие требованиям по электропроводности, удовлетворяют требованиям тестов на содержание аммония, кальция, магния, сульфатов, хлоридов, тяжелых металлов, а также по показателям «Кислотность и щелочность» и «Нитраты»²¹.

В результате было предложено заменить фармакопейные тесты для оценки качества ВДИ по таким преимущественно качественным показателям, как «Диоксид углерода», «Хлориды», «Кальций», «Сульфаты», «Аммоний», «Тяжелые металлы», «рН», «Нитраты», «Кислотность и щелочность» на количественный тест — оценку значения электропроводности²², что значительно упрощает процедуру анализа. Кроме того,

использование современного аналитического оборудования для регистрации электропроводности позволяет исключить или существенно снизить влияние человеческого фактора, повысить надежность контроля и сократить время получения результатов.

Замена показателей «Окисляемые вещества» и «Общий органический углерод». Общий органический углерод (ООУ), присутствующий в воде в виде растворенных и нерастворенных органических соединений, служит показателем качества воды и может указывать на наличие роста микроорганизмов²³. Считается, что для контроля органических примесей в ВДИ количественный метод определения ООУ является более чувствительным и менее избирательным, чем испытание на окисляемые вещества с использованием качественного теста, основанного на окислении различных органических примесей перманганатом калия [9, 10]. Это связано с тем, что наличие примесей трудноокисляемых органических веществ может затруднить их полное окисление в процессе тестирования ВДИ и привести к занижению результатов. В связи с этим были разработаны новые системы, позволяющие окислять углеродсодержащие соединения до диоксида углерода и измерять его концентрацию в режиме реального времени с помощью кондуктометрических и спектроскопических методов [11, 12]. При установленном пределе значения ООУ в образцах ВДИ (не более 0,5 мг/л) данные системы обеспечивают степень извлечения углерода 85–115%²⁴. Хотя точность теста на ООУ составляет ±15%, этот метод считается более предпочтительным по сравнению с качественным перманганатным тестом [9].

После внесения изменений в перечень показателей для тестирования ВДИ в Фармакопее США сходные тесты были введены в 2002 г. в Европейскую фармакопею²⁵ (показатели «Электропроводность» и «Общий органический углерод»)²⁶. Однако первоначально считалось, что эти тесты должны дополнять существующие качественные методы оценки, а не полностью заменять их, как это было реализовано в Фармакопее США. В отличие

¹⁹ Water for injection. United State Pharmacopeia. USP23–NF18, Suppl. 8; 1998.

²⁰ Water purified, Water for injections, Sterilised water for injections. Pharmeuropa. 1995;7(1):20–2.

Water purified, Water for injections, Sterilised water for injections. Pharmeuropa. 1997;9(3):399–402.

²¹ Comments concerning texts published in Supplement 11.4. Water for injections (0169). Water for injections in bulk. Nitrates. Pharmeuropa. 2023.

²² Water for injection. United State Pharmacopeia. USP23–NF18, Suppl. 8; 1998.

²³ ОФС.1.2.2.2.0026 Содержание общего органического углерода в воде для фармацевтического применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

²⁴ Там же.

²⁵ Water purified, Water for injections, Sterilised water for injections. Pharmeuropa. 1997;9(3):399–402.

²⁶ 07/2002:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 4th ed. Suppl. 4.2; 2002.

от подхода, принятого в Фармакопее США, где количественные методы быстро стали доминирующими, в других фармакопеях, включая Европейскую, внедрение этих методов происходило постепенно. В целом унификация требований к испытаниям ВДИ согласно Фармакопее США и Европейской фармакопее²⁷ стала важным шагом в гармонизации стандартов качества в рамках фармакопейной дискуссионной группы (Pharmacopoeial Discussion Group, PDG). Цель этой группы – гармонизация фармакопейных стандартов и поддержание согласованного уровня научных подходов во всех фармакопеях для обеспечения высокого качества и уровня безопасности лекарственных средств²⁸ [13, 14].

Фармакопейные требования к оценке качества нефасованной воды для инъекций

Проведенный ретроспективный анализ фармакопейных требований ведущих фармакопей мира выявил уменьшение национальных особенностей и тенденцию к применению схожих подходов при оценке качества ВДИ, что обусловлено активно протекающим в последние годы процессом гармонизации. В *таблице 1* представлены результаты анализа фармакопейных требований к ВДИ и СВДИ согласно требованиям ГФ РФ и ведущих фармакопей мира.

В соответствии с рекомендациями PDG, основанными на данных научных исследований, статистическом анализе и практическом опыте лабораторий различных стран, в последние годы произошли существенные изменения в требованиях фармакопей к оценке качества ВДИ за счет значительного сокращения перечня испытаний, прежде всего касающихся контроля содержания неорганических примесей качественными методами. В результате в соответствии с действующими изданиями Фармакопеи США, Европейской, Британской и Японской фармакопей (входят в PDG) оценку качества ВДИ проводят по четырем основным показателям: «Общий органический углерод», «Электропроводность», «Бактериальные эндотоксины» и «Микробиологическая чистота». Раздельное нормирование содержания примесей нитратов, аммония, сульфатов, хлоридов, кальция и магния, тяжелых металлов не регламентируется

[8]. Следует отметить, что, поскольку в течение долгого времени примеси нитратов преобладали в европейских системах водоснабжения²⁹, испытание ВДИ по данному показателю сохранялось в требованиях Европейской и Британской фармакопей до 2024 г.³⁰

В действующих изданиях Индийской и Китайской фармакопей, а также в ГФ РФ сохранена различная степень приверженности к использованию прежних аналитических методов для оценки качества ВДИ, и в перечень обязательных показателей наряду с испытанием по показателю «Электропроводность» входят отдельные качественные тесты (*табл. 1*). Несмотря на то что Индийская фармакопейная комиссия (Indian Pharmacopoeia Commission, IPC) присоединилась к PDG в 2023 г.³¹, в действующем издании Индийской фармакопеи [15] в настоящее время сохранились тесты на наличие нитратов и определение кислотности или щелочности. В соответствии с требованиями Китайской фармакопеи [16] ВДИ дополнительно подлежит испытаниям еще по трем показателям: «Аммоний», «Остаток после выпаривания» и «Тяжелые металлы». Анализ показателей «Окисляемые вещества» и «Общий органический углерод» установлен в качестве альтернативных вариантов, а вместо испытания по показателю «Кислотность или щелочность», предусмотренного Индийской фармакопеей, регламентировано определение «рН».

Перечень показателей для оценки качества ВДИ в ГФ РФ является самым обширным и включает четырнадцать наименований³² (*табл. 1*), в том числе определение содержания примесей ионов кальция и магния, сульфатов, хлоридов, углерода диоксида и др. Наличие органических примесей определяется в ГФ РФ только по наличию восстанавливающих веществ. Оценка качества ВДИ по показателю «рН», ранее исключенная из предыдущего издания ГФ РФ³³ как избыточная и малоинформативная, вновь внесена в требования наряду с испытанием на «Кислотность или щелочность»³⁴.

Сравнительный анализ допустимых пределов содержания различных примесей в ВДИ показал, что большинством фармакопей приняты в основном одинаковые нормативные

²⁷ Bevilacqua AC. Harmonization of conductivity tests for pharmaceutical waters. Thornton Inc.; 1999.

²⁸ <https://qualitymatters.usp.org/pharmacopoeial-harmonization-focus-japan>

²⁹ Bevilacqua AC. Harmonization of conductivity tests for pharmaceutical waters. Thornton Inc.; 1999.

³⁰ 04/2024:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 11th ed. Suppl. 11.4; 2024.

³¹ <https://www.edqm.eu/en/-/pharmacopoeial-discussion-group-achievements-10>

<https://www.edqm.eu/en/-/pdg-announces-global-membership-initiative>

³² ОФС.1.2.2.0026 Содержание общего органического углерода в воде для фармацевтического применения. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд. М.; 2023.

³³ ФС.2.2.0019.18 Вода для инъекций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 3; 2018.

³⁴ ФС.2.2.0019 Вода для инъекций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

Таблица 1. Фармакопейные требования к показателям качества воды для инъекций и стерильной воды для инъекций
Table 1. Pharmacopoeial requirements for the quality of water for injections and sterilised water for injections

Показатель <i>Tests</i>	Фармакопейные требования* <i>Pharmacopoeial requirements*</i>					
	Фармакопея США (2024) <i>USP 47-NF42 (2024)</i>	Японская фармакопея (2021) <i>JP 18 (2021)</i>	Европейская и Британская фармакопеи (2024) <i>Ph. Eur. and BP (2024)</i>	Индийская фармакопея (2022) <i>IP (2022)</i>	Китайская фармакопея (2020) <i>ChP (2020)</i>	ГФ РФ XV изд. (2023) <i>Ph. Rus. XV (2023)</i>
Тип воды <i>Type of water</i>	ВДИ/СВДИ <i>WFI/SWFI</i>	ВДИ/СВДИ <i>WFI/SWFI</i>	ВДИ/СВДИ <i>WFI/SWFI</i>	ВДИ/СВДИ <i>WFI/SWFI</i>	ВДИ/СВДИ <i>WFI/SWFI</i>	ВДИ <i>WFI</i>
Описание <i>Appearance</i>	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+
Кислотность или щелочность <i>Acidity or alkalinity</i>	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	+
рН	-/-	-/-	-/-	-/-	+/ 5,0–7,0	+ 5,0–7,0
Нитраты и нитриты, ppm <i>Nitrates and nitrites, ppm</i>	-/-	-/-	-/-	+/ ≤0,2 NO ₃ ⁻	+/ ≤0,6 NO ₃ ⁻ ≤0,2 NO ₂ ⁻	+ ≤0,2 NO ₃ ⁻
Аммоний, ppm ^a <i>Ammonium, ppm^a</i>	-/-	-/-	-/-	-/ ≤0,6 (<50 мл / mL) ≤0,2 (≥50 мл / mL)	+/ ≤0,2	+ ≤0,2
Кальций и магний <i>Calcium and magnesium</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	+
Сульфаты <i>Sulfates</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	+
Хлориды <i>Chlorides</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	+
Диоксид углерода <i>Carbon dioxide</i>	-/-	-/-	-/-	-/+	-/+	+
Тяжелые металлы, ppm <i>Heavy metals, ppm</i>	-/-	-/-	-/-	-/-	+/ ≤0,1	+ ≤0,1
Сухой остаток, % ^a <i>Residue on evaporation, %^a</i>	-/-	-/-	-/ 0,004 (≤10 мл / mL) 0,003 (>10 мл / mL)	-/ 0,004 (≤10 мл / mL) 0,003 (>10 мл / mL)	+/ ≤0,001	+ ≤0,001
Электропроводность, мкСм/см, 25 °С ^b <i>Conductivity, μS/cm, 25 °C^b</i>	+/ 1,3 (1)– 2,1 (2)– 4,7 (3)/ ≤25 (≤10 мл / mL) ≤5 (>10 мл / mL)	+/ 2,1 (1)/ ≤25 (≤10 мл / mL) ≤5 (>10 мл / mL)	+/ 1,3 (1)– 2,1 (2)– 4,7 (3)/ ≤25 (≤10 мл / mL) ≤5 (>10 мл / mL)	+/ 1,3 (1)– 2,1 (2)– 4,7 (3)/ ≤25 (≤10 мл / mL) ≤5 (>10 мл / mL)	+/ 1,3 (1)– 2,1 (2)– 4,7 (3)/ ≤25 (≤10 мл / mL) ≤5 (>10 мл / mL)	+ 1,3 (1)– 2,1 (2)– 4,7 (3)
Общий органический углерод (ООУ) ^c или окисляемые вещества (ОВ) <i>Total organic carbon (TOC)^c or oxidisable substances (OS)</i>	+/ ООУ TOC	+/ ООУ/ОВ TOC/OS	+/ ООУ/ОВ TOC/OS	+/ ООУ/ОВ TOC/OS	+/ ООУ или ОВ/ОВ TOC or OS/OS	+ Восстанавливающие вещества <i>Reducing substances</i>
Механические включения невидимые <i>Particulate contamination: sub-visible particles</i>	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	–
Бактериальные эндотоксины, ЕЭ/мл <i>Bacterial endotoxins, EU/mL</i>	+/ <0,25	+/ <0,25	+/ <0,25	+/ ≤0,25	+/ 0,25	+ ≤0,25

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Показатель <i>Tests</i>	Фармакопейные требования* <i>Pharmacopoeial requirements*</i>					
	Фармакопея США (2024) <i>USP 47-NF42</i> (2024)	Японская фармако- пея (2021) <i>JP 18</i> (2021)	Европейская и Британская фармакопеи (2024) <i>Ph. Eur. and BP</i> (2024)	Индийская фармакопея (2022) <i>IP</i> (2022)	Китайская фармакопея (2020) <i>ChP</i> (2020)	ГФ РФ XV изд. (2023) <i>Ph. Rus. XV</i> (2023)
Микробиологические требования <i>Microbiological monitoring</i>	+/ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>	+/ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>	+/ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>	+/ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>	+/ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>	+ ≤10 КОЕ/мл / Стерильно ≤10 CFU/mL / <i>Sterile</i>

Таблица составлена авторами / The table is prepared by the authors

Примечание. «+» — испытание предусмотрено, «-» — испытание не предусмотрено; ВДИ — вода для инъекций; СВДИ — стерильная вода для инъекций; * фармакопейные требования в соответствии со следующими изданиями: Фармакопея США 47 изд. (USP47–NF42), 2024 г.; Японская фармакопея 18 изд. (английская версия), 2021 г.; Европейская фармакопея 11 изд. (дополнение 11.5), 2024 г.; Британская фармакопея 2024, том I, 2024 г.; Индийская фармакопея 2022 изд. (английская версия), 2022 г.; Китайская фармакопея 2020, том II, 2020 г.; ГФ РФ — Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд., 2023 г.

^aВ скобках указан объем первичной упаковки.

^b Нормы показателя «Электропроводность» при поэтапной (1)–(3) оценке качества ВДИ или (/) в зависимости от объема первичной упаковки СВДИ.

^cНорма по показателю ООУ: не более 0,5 мг/л.

Note. +, testing required; –, testing not required; WFI, water for injections; SWFI, sterilised water for injections. * Pharmacopoeial requirements are presented in accordance with the following editions: USP, United State Pharmacopeia (USP47–NF42), 2024; JP, Japanese Pharmacopoeia 18th ed. (English version), 2021; Ph. Eur., European Pharmacopoeia 11th ed. (supplement 11.5), 2024; BP, British Pharmacopoeia 2024, Vol. 1, 2024; IP, Indian Pharmacopoeia 2022 (English version), 2022; ChP, Pharmacopoeia of the Peoples' Republic of China 2020 ed., Vol. 2, 2020; Ph. Rus., State Pharmacopoeia of the Russian Federation 15th ed., 2023.

^aThe round brackets indicate the volume of the primary container.

^b Conductivity requirements are specified for the stage-by-stage (1–3) quality control (for WFI) or for the control depending on the primary container volume (for SWFI).

^cTOC specification: not more than 0.5 mg/L.

требования (табл. 1). Незначительное расхождение касается более строгого подхода, принятого в Японской фармакопее, к оценке электропроводности — предусмотрено одноэтапное испытание с единым установленным для ВДИ и СВДИ предельным значением электропроводности 2,1 мкСм/см, которое соответствует предельному значению второго этапа испытания согласно требованиям всех рассмотренных фармакопей для СВДИ.

Важно отметить, что Фармакопея ЕАЭС в настоящее время пока не вступила в полную силу и в ней не содержатся конкретные требования к качеству ВДИ или методам испытаний. Коллегия Евразийской экономической комиссии рекомендует при производстве ЛС для медицинского применения ориентироваться на Приложение к документу «О требованиях к воде для фармацевтического применения, используемой для производства лекарственных средств»³⁵. В Приложении изложен общий подход к получению и хранению ВДИ, который включает этапы контроля и мониторинга

микробной контаминации, предусмотренные согласно фармакопее ЕАЭС и фармакопеям стран ЕАЭС. Качество ВДИ должно соответствовать требованиям испытаний, проводимых для воды очищенной, а также дополнительным требованиям по содержанию бактериальных эндотоксинов (не менее 0,25 МЕ/мл), удельной электропроводности и содержанию ООУ. Однако методики оценки и предельные значения содержания примесей в данном документе не определены. Установленные в документе общие положения в целом соответствуют основным принципам, определенным ведущими фармакопеями в отношении качества ВДИ. Требования к качеству конечной лекарственной формы ВДИ, а именно к СВДИ, в Приложении не приводятся.

Таким образом, основным мировым трендом изменений в фармакопейных требованиях к оценке качества ВДИ является сокращение перечня испытаний, касающихся контроля содержания органических и неорганических примесей качественными методами, и замена их на количественные методы.

³⁵ Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13.12.2017 № 31 «О Требованиях к воде для фармацевтического применения, используемой для производства лекарственных средств».

Фармакопейные требования к оценке качества стерильной воды для инъекций

Общие подходы. В ходе анализа фармакопейных требований было установлено, что требования к оценке качества ВДИ и СВДИ отличаются (табл. 1). Для проверки качества готовой лекарственной формы фасованной СВДИ в изученных фармакопеях регламентировано проведение дополнительных тестов для анализа по показателям, которые предусмотрены для парентеральных лекарственных форм, таких как «Стерильность» и «Механические включения». Существенным отличием является то, что значение электропроводности устанавливают в зависимости от объема растворителя (для $V \leq 10$ мл и $V > 10$ мл). Дифференцированный подход к установлению нормативных значений электропроводности был выбран после получения результатов тестирования СВДИ в контейнерах³⁶, в которых было показано, что в процессе стерилизации и последующего хранения в фасованной стерильной воде часто обнаруживаются примеси, выделяющиеся из материалов первичной упаковки (стекло, пластик, резиновые пробки) [17–21]. В связи с этим было принято решение, что критерии тестирования электропроводности для фасованной СВДИ должны отличаться от тех, которые применяются для оценки качества нефасованной ВДИ³⁷. С учетом этого были разработаны требования для контейнеров и укупорочных средств, позволяющие их использовать для инъекционных ЛС³⁸. В Европейской фармакопее, а затем и в фармакопеях других стран были установлены пределы электропроводности для СВДИ (при 25 ± 1 °C): не более 25 мкСм/см — для контейнеров с номинальным объемом ≤ 10 мл и не более 5 мкСм/см — для контейнеров с номинальным объемом более 10 мл³⁹.

Требования Фармакопеи США и Японской фармакопеи. На основании данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод, что в Фармакопее США⁴⁰ для контроля ВДИ и СВДИ используют одинаковые показатели и аналитические методы (за исключением показателей «Стерильность» и «Механические включения»). Обновленные требования к испытаниям СВДИ (исключение показателей «рН», «Аммоний»,

«Кальций», «Диоксид углерода», «Сульфаты» с заменой на «Электропроводность»⁴¹) вступили в силу в 2007 г.⁴² и сохранились в том же виде в действующем издании Фармакопеи США. Полная замена испытания по показателю «Окисляемые вещества» на испытание по показателю «Общий органический углерод» была проведена в 2021 г.⁴³

Схожий подход к оценке неорганических примесей в СВДИ принят и в Японской фармакопее. Однако контроль наличия примесей органических веществ осуществляется в тесте по показателю «Окисляемые вещества», а не по количественному показателю «Общий органический углерод», который используется для оценки ВДИ. Оценка качества по показателю «Окисляемые вещества» в СВДИ также одобрена Европейской, Британской, Индийской и Китайской фармакопеями. Вместе с тем на дискуссионной площадке Европейской фармакопеи в 2024 г. представлен новый проект монографии «Вода для инъекций» (0169), в которой в разделе «Стерилизованная вода для инъекций» предложена замена качественного колориметрического метода определения окисляемых веществ на количественный тест по показателю «Общий органический углерод». Для упрощения применения теста определения ООУ также предлагается заменить реагенты сахарозу и 1,4-бензохинон соответствующими стандартными образцами. В комментарии к проекту отмечено, что использование для оценки качества СВДИ количественного метода представляет очевидные преимущества для производителей во всем мире⁴⁴.

Следует отметить, что стандартизация аналитической методики и автоматизация процедуры анализа являются важным шагом на пути международной гармонизации фармакопейных требований в части создания единого подхода к анализу качества СВДИ — широко применяемого в медицине вспомогательного вещества. Вместе с тем это потребует со стороны производителей значительных финансовых вложений, связанных с покупкой специального оборудования и соответствующих фармакопейных стандартных образцов. Известно, что при обсуждении этого решения экспертами Европейской фармакопеи

³⁶ Pharmacopeial previews: Sterile purified water. Pharmacopeial Forum. 2002; 28(4):1272.

³⁷ Там же.

³⁸ Elastomeric closures for injections. United State Pharmacopeia. USP32–NF27; 2007.

Containers — Glass. United State Pharmacopeia. USP32–NF27; 2007.

Containers — Plastics. United State Pharmacopeia. USP32–NF27; 2007.

³⁹ 07/2002:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 4th ed. Suppl. 4.2; 2002.

⁴⁰ Water for injection. Sterile water for injection. United State Pharmacopeia. USP47–NF42; 2024.

⁴¹ In-process revision: Sterile water for injection. Pharmacopeial Forum. 2005;31(3):803.

⁴² Sterile water for injection. United State Pharmacopeia. USP32–NF27, Suppl. 2; 2007.

⁴³ Sterile water for injection. United State Pharmacopeia. USP41–NF36; 2021.

⁴⁴ <https://www.edqm.eu/en/-/three-revised-texts-related-to-pharmaceutical-waters-published-in-pharmeuropa-36.3>

рассматривался вопрос о том, насколько тест определения ООУ будет подходящим для европейских производителей СВДИ в контейнерах⁴⁵.

Требования Европейской, Британской, Индийской, Китайской фармакопей и Государственной фармакопеи Российской Федерации. В Европейской, Британской, Индийской и Китайской фармакопеях для контроля качества СВДИ установлены дополнительные тесты. Причиной такого решения является не только преемственность в сохранении ранее утвержденных подходов к контролю, но и особенности качества воды, используемой для приготовления СВДИ, а также материалов первичной упаковки в этих странах. Один из таких тестов — испытание по показателю «Сухой остаток» (табл. 1). Нормативное значение по показателю согласно Европейской, Британской, Индийской фармакопеям установлено в зависимости от объема первичной упаковки, в то время как в Китайской фармакопее для фасованной и нефасованной воды регламентирована единая норма. Проведение теста на определение содержания сухого остатка («Остаток после выпаривания») в Фармакопее США было сочтено избыточным, поскольку, как было показано, неселективные тесты на электропроводность и ООУ позволяют обнаружить большинство химических соединений за исключением коллоидного диоксида кремния. Однако большая часть коллоидного диоксида кремния легко удаляется на этапах предварительной очистки воды, а незначительное его присутствие в воде за исключением экстремальных и редких ситуаций Управлением по контролю качества продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) признано безопасным (generally recognised as safe, GRAS)⁴⁶ [22].

Наибольшее количество дополнительных тестов для оценки качества СВДИ по сравнению с перечнем показателей, используемых для ВДИ, применяется в Индийской и Китайской фармакопеях. В СВДИ дополнительно проводится определение аммония, кальция и магния, сульфатов, хлоридов, диоксида углерода и нитратов. Кроме того, в Китайской фармакопее для СВДИ

проводятся испытания на наличие тяжелых металлов, а в Индийской фармакопее — испытание по показателю «Кислотность и щелочность». Определение pH предусмотрено Китайской фармакопеей для оценки качества СВДИ и ВДИ.

Перечень показателей, методов и нормативных значений, принятый в действующем издании ГФ РФ (ФС.2.2.0019⁴⁷) содержит только требования к оценке качества ВДИ, которые при этом практически полностью совпадают с требованиями Китайской фармакопеи для СВДИ. Исключение составляет наличие в Китайской фармакопее дифференцированного подхода к нормированию электропроводности в зависимости от объема первичной упаковки и испытания на кислотность или щелочность в ГФ РФ.

В Европейской фармакопее в 2023 г.⁴⁸ после многолетних научных дискуссий⁴⁹, а также с учетом опыта внесения соответствующих изменений в Фармакопею США произошли значительные изменения в подходе к оценке качества СВДИ. Из монографии Европейской фармакопеи (04/2023:0169⁵⁰) были удалены тесты по оценке содержания неорганических веществ (показатели: «Кислотность и щелочность», «Нитраты», «Аммоний», «Кальций и магний», «Сульфаты» и «Хлориды») в пользу одного количественного теста по показателю «Электропроводность». Кроме того, в Европейской фармакопее с 2024 г. по итогам обсуждения на 175-й сессии Европейской фармакопейной комиссии (European Pharmacopoeia Commission) в целях совершенствования оценки качества ВДИ и СВДИ был введен дополнительный метод флуориметрического обнаружения бактериальных эндотоксинов с помощью рекомбинантного фактора С (rFC), полученного на основе последовательности гена мечехвоста⁵¹. Была введена монография 2.6.32 (Тест на бактериальные эндотоксины с использованием рекомбинантного фактора С⁵²), описывающая тест для количественного определения бактериального эндотоксина, который может использоваться в качестве альтернативы классическим методам, основанным на лизате амебоцитов *Limulus* (LAL).

⁴⁵ <https://www.edqm.eu/en/-/ph-eur-to-launch-survey-for-the-use-of-total-organic-carbon-toc-test-as-a-replacement-of-oxidisable-substances-test-in-water-for-injections>

⁴⁶ Water for pharmaceutical purposes / Chemical considerations. United State Pharmacopeia. USP29–NF24; 2004.

⁴⁷ ФС.2.2.0019 Вода для инъекций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV изд.; 2023.

⁴⁸ 04/2023:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 11th ed. Suppl. 11.1; 2023.

⁴⁹ Water for injections, Sterilised water for injections. Pharmeuropa. 2021;(4):240–6.

Water for injections. Pharmeuropa. 2022;(7):399–402.

⁵⁰ 04/2023:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 11th ed. Suppl. 11.1; 2023.

⁵¹ Comments concerning texts published in Supplement 11.4. Water for injections (0169). Water for injections in bulk and Sterilised water for injections. Bacterial endotoxins. Pharmeuropa. 2023.

⁵² 2.6.32 Test for bacterial endotoxins using recombinant factor C. European Pharmacopoeia. 11th ed. Suppl. 11.4; 2024.

В действующем издании Британской фармакопеи⁵³ представлены требования к оценке качества СВДИ, аналогичные Европейской фармакопее.

Таким образом, существенные изменения в подходах к оценке качества СВДИ, которые произошли в последних изданиях Фармакопеи США, Японской, Европейской и Британской фармакопеи, направлены на оптимизацию и совершенствование процедуры испытания СВДИ за счет сокращения количества качественных тестов и перехода к использованию количественных методов, отличающихся большей автоматизацией процесса.

В связи с тем что Европейская фармакопея признана одной из основных в рамках гармонизации фармакопей государств – членов ЕАЭС, а фармакопея ЕАЭС ориентируется в своих требованиях на Европейскую фармакопею, при разработке нового нормативного документа на СВДИ необходимо учесть основные изменения, которые произошли в последние годы в Европейской фармакопее. Аналогичный подход необходимо использовать также для актуализации фармакопейной статьи «Вода для инъекций» в ГФ РФ, поскольку в настоящее время требования к готовой лекарственной форме растворителя отсутствуют, а перечень показателей и методов для оценки качества нефасованной воды избыточен.

Вместе с тем считаем, что в целях сохранения преемственности и возможности международной гармонизации фармакопейных требований в части оценки примесей органических веществ в рамках правового поля ЕАЭС и национальных требований Российской Федерации следует сохранить испытание по показателю «Окисляемые вещества» в качестве альтернативы тесту на «Общий органический углерод»⁵⁴. Такой подход также предоставит больше возможностей для проведения автономного тестирования, например в аптеках, экспертных организациях, а также на небольших фармацевтических предприятиях.

Практика экспертизы качества стерильной воды для инъекций в Российской Федерации

Анализ результатов испытаний 148 серий готовой лекарственной формы СВДИ (табл. S1, опубликована на сайте журнала⁵⁵), выпускаемой в комплекте с биологическими лекарственными препаратами 38 российских и зарубежных произ-

водителей, проведенный в период 2018–2024 гг. в испытательном центре экспертизы качества медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России показал, что образцы, качество которых отвечало требованиям НД по электропроводности⁵⁶, также соответствовали требованиям по всем показателям, установленным для выявления неорганических примесей⁵⁷. Не было зарегистрировано ни одного случая несоответствия образцов, в которых значение электропроводности находилось в пределах нормы, но были выявлены примеси неорганических ионов. Вместе с тем в ходе контроля образцов двух серий СВДИ одного и того же производителя, которые соответствовали качеству по 11 показателям («рН», «Кислотность и щелочность», «Аммоний», «Кальций и магний», «Сульфаты» и «Хлориды», «Сухой остаток», «Восстанавливающие вещества», «Углерода диоксид», «Нитраты и нитриты», «Тяжелые металлы»), было обнаружено их несоответствие требованиям качества по показателю «Электропроводность» (6,4 мкСм/см).

Полученные результаты продемонстрировали, что проведение испытания по показателю «Электропроводность» (нормативное значение: не более 5 мкСм/см для емкостей с номинальным объемом более 10 мл) позволяет более точно оценить качество СВДИ и обнаружить возможное загрязнение в отличие от тестирования с использованием всего перечня качественных тестов, регламентированных для выявления неорганических примесей. Возможными причинами превышения допустимого значения по показателю «Электропроводность» при соответствии качества по тестам на содержание неорганических примесей можно считать, во-первых, меньшую чувствительность качественных химических реакций, а во-вторых, появление в образце в процессе хранения примесей, испытание на присутствие которых в готовой форме СВДИ не предусмотрено. В связи с этим выявление несоответствия по показателю «Электропроводность» при подтверждении качества по содержанию неорганических примесей требует от производителя тщательного расследования и всестороннего анализа риска с целью внедрения соответствующих корректирующих мер для обеспечения стабильного качества продукции и соответствия ее заявленным характеристикам.

В ходе проведения экспертизы в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России было отмечено,

⁵³ 04/2024:0169 Water for injections (incorporating from Ph. Eur. Suppl. 11.4). British Pharmacopoeia. Vol. 1; 2024.

⁵⁴ <https://www.edqm.eu/en/-/ph-eur-to-launch-survey-for-the-use-of-total-organic-carbon-toc-test-as-a-replacement-of-oxidisable-substances-test-in-water-for-injections>

⁵⁵ <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110-table-S1>

⁵⁶ 01/2009:0169 Water for injections. European Pharmacopoeia. 8th ed; 2014.

⁵⁷ ФС.2.2.0019.18 Вода для инъекций. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 3; 2018.

что ряд производителей, выпускающих лекарственные препараты в комплексе с растворителем СВДИ (препараты факторов свертывания крови⁵⁸ Афстила®, Бериате®, Беринерт®, Идельвион®, Коаплекс), предложил при оценке качества СВДИ замену качественных тестов на количественные методы анализа. Суть предлагаемых изменений заключалась в том, что в дополнение к инструментальным методам измерения электропроводности и ООУ для количественной оценки примесей аммония ($\leq 0,2$ ppm), кальция и магния ($0,05$ ммоль/л), хлоридов ($0,5$ ppm), нитратов ($0,2$ ppm) и сульфатов ($\leq 0,5$ ppm) предложено использовать метод ионной хроматографии. К преимуществам альтернативного метода можно отнести широкий диапазон определяемых концентраций ионов (от 1 ppb до 1000 ppm без разбавления), высокую селективность, быстрое получение результатов (до 10 ионов за 10 – 15 мин) и малые объемы анализируемых проб (обычно 10 – 50 мкл)⁵⁹. Однако этот метод не позволяет в полной мере учитывать вклад других примесей, оценка которых предусмотрена по таким показателям, как «Кислотность и щелочность», «Тяжелые металлы», «Диоксид углерода».

Поскольку в большинстве рассматриваемых фармакопей при контроле качества СВДИ используется подход, основанный на полной замене большинства качественных тестов на определение электропроводности и ООУ, то, по мнению авторов статьи, нет необходимости в использовании дополнительного метода с использованием дорогостоящего оборудования и применения соответствующих стандартных образцов в рутинном контроле. Описанный выше подход с применением альтернативного метода (ионная хроматография) следует считать узкоспециализированным, который может быть использован, в частности, для установления вида примеси и получения точных количественных значений по отдельным показателям, по которым не существует подходящих качественных реакций.

Таким образом, испытание по показателю «Электропроводность» позволяет определить наличие большинства возможных неорганических примесей в СВДИ. В случае несоответствия по данному показателю или возникновения

рисков появления нового вида загрязнения производитель может использовать для идентификации неорганической примеси более чувствительный метод ионной хроматографии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы в ведущих мировых фармакопеях произошли значительные изменения требований к оценке качества растворителя лекарственных средств – воды для инъекций и стерильной воды для инъекций, основным трендом которых является оптимизация процедуры испытания за счет сокращения и замены качественных методов анализа органических и неорганических примесей в пользу перехода к использованию количественных методов (определение электропроводности и общего органического углерода), характеризующихся автоматизацией процедуры анализа. Показана эффективность данного подхода в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России при проведении экспертизы качества биологических лекарственных препаратов, выпускающихся в комплексе с растворителем (стерильная вода для инъекций).

Обновленные требования к качеству воды для инъекций и стерильной воды для инъекций в действующем издании Европейской фармакопеи (07/2024:0169) могут быть использованы при подготовке стандарта качества на фасованную стерильную воду для инъекций в рамках законодательного регулирования ЕАЭС, а также для актуализации фармакопейной статьи «Вода для инъекций» Государственной Фармакопеи Российской Федерации.

Введение в действие этих требований позволит гармонизировать национальные фармакопейные требования в соответствии с международными документами и установить единые подходы к оценке качества воды для инъекций российских и зарубежных производителей. Кроме того, оптимизация процедуры анализа позволит повысить качество как растворителя, так и лекарственного препарата, в комплексе с которым он выпускается, что обеспечит возможность автономного тестирования в экспертных учреждениях, аптеках и на небольших фармацевтических предприятиях.

Литература/References

1. Матвеева ОА, Ковалева ЕЛ, Пономаренко АА. Оценка и контроль органических примесей в лекарственных средствах: обзор. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(2):217–27. Matveeva OA, Kovaleva EL, Ponomarenko AA. Assessment and control of organic impurities in medicinal products: A review. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(2):217–27 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-2-217-227>
2. Машин ВВ, Сергеев АН, Мартынова НН, Антипина ТВ, Саканян ЕИ, Катаева ВВ, Загидуллин НВ. Минимизация риска вирусной контаминации гетерологичных имму-

⁵⁸ <https://grls.rosminzdrav.ru>

⁵⁹ Саяхов РИ, Хацринова ЮА. Ионная хроматография. Методические указания к лабораторной работе. Казанский национальный исследовательский технологический университет; 2021.

- ноглобулинов в рамках требований Государственной фармакопеи Российской Федерации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2022;22(2):112–23. Mashin VV, Sergeev AN, Martynova NN, Antipina TV, Sakanyan EI, Kataeva VV, Zagidullin NV. Minimisation of the viral contamination risk of heterologous immunoglobulins in the context of the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2022;22(2):112–23 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2022-22-2-112-123>
3. Sheinin EB. Pharmacopoeial methods and tests. In: *Specification of drug substances and products*. Elsevier; 2020. P. 607–37. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102824-7.00023-3>
 4. De A, De S, Saha N, Das B, Naskar S, Samanta A. Pharmacopoeias, national formulary and extra pharmacopoeia. In: *Dosage forms, formulation developments and regulations*. Academic Press; 2024. P. 83–98. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91817-6.00011-5>
 5. Суханова СМ, Минаева НМ. Сравнительный анализ отечественных и зарубежных фармакопейных требований к оценке качества воды для инъекций: проблемы и пути гармонизации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(2):99–108. Sukhanova SM, Minaeva NM. Comparative analysis of Russian and foreign pharmacopoeial requirements for the quality control of water for injection: Challenges and ways of harmonisation. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(2):99–108 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-2-99-108>
 6. Bevilacqua AC. Calibration and performance of a conductivity system to meet USP 23. *Ultrapure Water*. 1996;13(8):25–34.
 7. Bhavna, Ojha A, Bhargava S. International Council for Harmonisation (ICH) guidelines. *Regulatory affairs in the pharmaceutical industry*. Academic Press; 2022. P. 47–74. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822211-9.00008-3>
 8. Torres G, Arsitio A, Genovesi C. Comparison of EP “Heavy metals” test with USP conductivity test. *Pharm Technol*. 2005;29:80–2.
 9. Matsuda R, Ishibashi M, Uchiyama M, Hiraoka T, Hoshida H, et al. Total organic carbon as an index for specification of water for injection. *J Assoc Off Anal Chem*. 1987;70(4):681–6. PMID: 3624176
 10. Crane GA, Mittleman MW, Stephan M. Total organic carbon measurement as a substitute for the USP oxidizable substances test. *J Parenter Sci Technol*. 1991;45(1):20–8. PMID: 1901086.
 11. Shetty A, Goyal A. Total organic carbon analysis in water – a review of current methods. *Materials Today: Proceedings*. 2022;65:3881–6. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.07.173>
 12. Wang S, Qin H, Liu Y, Wang M, Feng Y, Guo L. A new TOC measuring device based on UV oxidation and electrical conductivity measurement. *Integr Ferroelectr*. 2022;228(1):142–56. <https://doi.org/10.1080/10584587.2022.2072130>
 13. Kameyama Y, Matsuhama M, Mizumaru C, Saito R, Ando T, Miyazaki S. Comparative study of pharmacopoeias in Japan, Europe, and the United States: Toward the further convergence of international pharmacopoeial standards. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2019;67(12):1301–13. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00621>
 14. Tanaka K, Matsuhama M, Saito R, Miyazaki S. Consideration for promoting pharmacopoeial harmonization based on a case study of the preparation and revision process for Japanese Pharmacopoeia general notices. *Jpn J History Pharm*. 2023;58(1):26–35. https://doi.org/10.34531/jjhp.58.1_26
 15. Pratap Singh Jadaun G, Rastogi S, Kumar A, Chauhan J, Kumar Sharma S, Kumar M, et al. Ensuring the quality of medicines in India: An update on the development, modernization, and harmonization of drug standards in the Indian Pharmacopoeia. *Saudi Pharm J*. 2023;31(12):101825. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101825>
 16. Xu X, Xu H, Shang Y, Zhu R, Hong X, Song Z, Yang Z. Development of the general chapters of the Chinese Pharmacopoeia 2020 edition: A review. *J Pharm Anal*. 2021;11(4):398–404. <https://doi.org/10.1016/j.jpah.2021.05.001>
 17. Shreiner R. Stability of standard electrolytic conductivity solutions in glass containers. *J Res Natl Inst Stand Technol*. 2002;107:393–9. <https://doi.org/10.6028/jres.107.032>
 18. Poirier SJ, Meltzer TH. Stimuli to the revision process: Total organic carbon extractables from polymeric and glass containers. *US Pharmacopeial Forum*. 2002;28(5):1680–3.
 19. Minobe S. The quality evaluation of JP Purified Water and JP Water for Injection by conductivity and total organic carbon (TOC). *Pharm Med Device Regul Sci*. 2008;39(4):223–41.
 20. Slabicky YO, Hernandez-Cardoso A. Stimuli to the revision process: Determination of organic carbon contamination in packaged pharmaceutical water – contributions by the container. *US Pharmacopeial Forum*. 2010;36(5):1414–22.
 21. Bevilacqua AC, Clontz L, Lazar MS, Rossi B, Slabicky R, Soli TC, Hernandez-Cardoso A. Stimuli to the revision process: Updating sterile packaged water attributes: Conductivity and total organic carbon. *US Pharmacopeial Forum*. 2010;36(5):1414–22.
 22. Меньшикова СВ, Кетова ГГ, Попилов МА. Малоизвестные свойства Полисорба МП (диоксида кремния коллоидного). *Главный врач Юга России*. 2018;(1):32–4. Menshikova SV, Ketova GG, Popilov MA. Under-reported properties of Polisorb MP (colloidal silica). *Chief Physician of the South of Russia*. 2018;(1):32–4 (In Russ.). EDN: YMOYLV

Дополнительная информация. На сайте журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение» размещена таблица S1. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110-table-S1>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **С.М. Суханова** — идея и дизайн исследования, критический пересмотр содержания, научное редактирование и корректировка текста рукописи, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; **А.А. Семенов** — дизайн исследования, анализ литературных данных, интерпретация результатов, написание текста рукописи; **Н.М. Минаева** — написание и обсуждение текста рукописи.

Additional information. Table S1 is published on the website of *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-97-110-table-S1>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **S.M. Sukhanova** conceived the study idea, designed the study, critically revised and proofread the manuscript, and approved the final version of the manuscript for publication. **A.A. Semenov** designed the study, analysed literature data, interpreted the results, and drafted the manuscript. **N.M. Minaeva** drafted and discussed the manuscript.

Об авторах / Authors

Суханова Светлана Михайловна, канд. биол. наук / **Svetlana M. Sukhanova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6621-4384>

Семенов Андрей Александрович, канд. биол. наук / **Andrey A. Semenov**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0711-2585>

Минаева Наталья Михайловна / **Natalia M. Minaeva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1958-7342>

Поступила 20.09.2024

После доработки 13.01.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 20 September 2024

Revised 13 January 2025

Accepted 21 March 2025



Влияние условий хранения цельноклеточной коклюшной вакцины на ее токсичность: исследование на аутбредных мышах

И.А. Алексеева^{1,✉}, Д.Н. Лепихова¹, О.Ю. Борисова², А.С. Пименова²,
И.Ю. Андриевская², И.В. Ибрагимхалилова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, ул. Адмирала Макарова, д. 10, Москва, 125212, Российская Федерация

✉ Алексеева Ирина Андреевна; alekseevai@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Цельноклеточная коклюшная вакцина (ЦКВ) обладает высокой эффективностью, однако побочное действие (повышение температуры, отечность в месте введения, аллергические реакции, фебрильные судороги) ограничивает ее широкое использование. Актуальными являются исследования, направленные на снижение токсических свойств ЦКВ.

ЦЕЛЬ. Оценка токсических свойств цельноклеточной коклюшной вакцины в экспериментах на мышах при изменении условий в процессе хранения вакцины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Использовали штаммы *Bordetella pertussis* — производственные штаммы, а также циркулирующие штаммы, выделенные от больных коклюшем детей. Десять образцов ЦКВ готовили путем проведения смыва выращенной бактериальной культуры и внесения в суспензию формальдегида (инактивирующий агент) и тиомерсала (консервант). Использовали аутбредных мышей, которых распределяли в 10 опытных групп и 1 контрольную, содержащих по 10 животных каждая. Мышам опытных групп внутрибрюшинно вводили образцы ЦКВ, мышам контрольной группы — 0,9% раствор натрия хлорида с тиомерсалом. Проводили взвешивание мышей до введения препарата, а также на 1 и 7 сут после введения. Сроки взвешивания животных обусловлены сроками максимального проявления действия основных токсинов *B. pertussis* — липоолигосахарида (на 1 сут) и коклюшного токсина (на 7 сут). Определяли значения показателя специфической безопасности образцов ЦКВ на протяжении срока хранения вакцины (12 мес.) как отношение прироста массы тела мышей группы опытных животных к приросту массы тела контрольных животных, выраженное в процентах.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Введение животным коклюшной суспензии после ее выдерживания с инактивирующим агентом в условиях хранения в течение 1–3 мес. приводило к снижению массы тела мышей на (-2,84%) относительно исходного веса на 1 сут после введения вакцины, а в случае коклюшной суспензии, инактивированной в течение 10–12 мес., снижение массы тела составило (-1,62%). Установлено, что при введении коклюшной суспензии, выдержанной с инактивирующим агентом в течение 1–3 мес., прирост массы тела мышей через 7 сут после введения вакцины составил 31,0% по отношению к исходному весу, а показатель специфической безопасности — 69,38%. В случае коклюшной суспензии, инактивированной в течение 10–12 мес., прирост массы тела составлял 43,22%, а показатель специфической безопасности — 84,31%. Это указывает на снижение остаточной токсичности вакцины через 12 мес., а также на то, что процесс обезвреживания коклюшного токсина

носит пролонгированный характер и продолжается на протяжении всего срока хранения вакцины. Величина коэффициента корреляции Спирмена, характеризующая силу связи между значениями специфической безопасности и приростом массы тела мышей, составила: на 7 сут – 0,55 ($p < 0,01$), что указывает на заметную силу связи между изучаемыми показателями; на 1 сут – 0,349 ($p < 0,01$), что свидетельствует об умеренной силе связи.

ВЫВОДЫ. Полученные результаты продемонстрировали более полную детоксикацию коклюшного токсина в образцах вакцин, выдержанных с инактивирующим агентом не менее 10–12 мес. в условиях хранения. Для повышения безопасности АКДС-вакцины целесообразно использовать серии ЦКВ после 10–12 мес. хранения в регламентированных условиях.

Ключевые слова: цельноклеточная коклюшная вакцина; ЦКВ; специфическая безопасность; остаточная токсичность; АКДС-вакцина; коклюшный токсин; липоолигосахарид *Bordetella pertussis*; условия хранения вакцины; инактивация коклюшного токсина

Для цитирования: Алексеева И.А., Лепихова Д.Н., Борисова О.Ю., Пименова А.С., Андриевская И.Ю., Ибрагимхалилова И.В. Влияние условий хранения цельноклеточной коклюшной вакцины на ее токсичность: исследование на аутбредных мышах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2025;25(1):111–120. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-111-120>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР № 124022200103-5).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Influence of storage conditions on the toxicity of whole-cell pertussis vaccine in outbred mice

Irina A. Alekseeva¹, Darya N. Lepikhova¹, Olga Yu. Borisova², Alena S. Pimenova², Irina Yu. Andrievskaya², Ilkhamya V. Ibragimkhalilova¹

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² Gabrichevsky Institute of Epidemiology and Microbiology, Admiral Makarov St., 10, Moscow 125212, Russian Federation

✉ Irina A. Alekseeva; alekseevai@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Although whole-cell pertussis vaccine (WCPV) is highly effective, its widespread use is limited by adverse reactions (increased body temperature, administration site oedema, allergic reactions, and febrile seizures). Therefore, there is a need to explore strategies for reducing the toxicity of WCPV.

AIM. This study aimed to evaluate the toxicity of WCPV in mice after storing WCPV under different conditions.

MATERIALS AND METHODS. This study focused on *Bordetella pertussis* strains, including vaccine production strains and circulating strains isolated from children with pertussis. Ten WCPV samples were prepared by washing the grown cultures and adding formaldehyde (inactivating agent) and thimerosal (preservative) to the bacterial suspensions. Outbred mice were randomised into 10 test groups and 1 control group (10 animals per group). The test groups received intraperitoneal injections of the WCPV samples, while the control group received 0.9% sodium chloride with thimerosal. Mice were weighed before injection, as well as on Days 1 and 7 after injection. The weighing was timed to coincide with the peak activity of the main *B. pertussis* toxins, lipo-oligosaccharide (Day 1) and pertussis toxin (Day 7). The specific safety index was calculated as the ratio of the weight gain of the test animals to the weight gain of the control animals (in %) and was monitored for the WCPV samples throughout the WCPV shelf life (12 months).

RESULTS. On Day 1 after injection, the *B. pertussis* suspensions kept with the inactivating agent under recommended storage conditions for 1–3 months caused a 2.84% decrease in the body weight of mice from the baseline weight, and the suspensions inactivated for 10–12 months caused a 1.62% weight loss relative to the baseline. On Day 7 after injection, the mice that received the *B. pertussis* suspensions inactivated for 1–3 months showed a 31.0% increase from the baseline weight, and the mice that received the suspensions inactivated for 10–12 months demonstrated a 43.22% weight gain. The suspensions inactivated for 1–3 months and 10–12 months had specific safety indices of 69.38% and 84.31%, respectively. According to these findings, the residual toxicity of WCPV decreased after 12 months of storage, and the process of pertussis toxin inactivation lasted throughout the entire WCPV shelf life. Spearman's correlation coefficient, characterising the strength of the relationship between the specific safety index and the weight gain of mice, was 0.55 ($p < 0.01$) on Day 7 (a noticeably strong relationship) and 0.349 ($p < 0.01$) on Day 1 (a moderately strong relationship).

CONCLUSIONS. The results suggest a more complete detoxification of pertussis toxin in the samples of WCPV kept with the inactivating agent under recommended storage conditions for at least 10–12 months compared with that after a shorter period. To improve the safety of DTP vaccines, it is advisable to use WCPV batches stored for 10–12 months.

Keywords: whole-cell pertussis vaccine; WCPV; specific toxicity; residual toxicity; DTP vaccine; pertussis toxin; *Bordetella pertussis* lipo-oligosaccharide; vaccine storage conditions; pertussis toxin inactivation

For citation: Alekseeva I.A., Lepikhova D.N., Borisova O.Yu., Pimenova A.S., Andrievskaya I.Yu., Ibragimkhalilova I.V. Influence of storage conditions on the toxicity of whole-cell pertussis vaccine in outbred mice. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(1):111–120. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-1-111-120>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022200103-5).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Включение цельноклеточной коклюшной вакцины (ЦКВ) в календарь профилактических прививок значительно снизило заболеваемость коклюшем¹ [1], хотя не устранило эпидемические вспышки, происходящие по всему миру каждые 3–5 лет. Данные по динамике заболеваемости коклюшем подтверждают высокую эффективность ЦКВ. Например, в Англии с середины 1940-х гг., когда началась вакцинация, до середины 1970-х гг. заболеваемость коклюшем неуклонно снижалась [2]. Однако в результате антипрививочной кампании охват населения вакцинацией сократился, что привело к резкому росту заболеваемости. В Англии 1970-е гг. на фоне роста числа отказов от вакцинации было зарегистрировано более 100 летальных исходов [3]. Эти данные свидетельствуют о том, что польза вакцинации значительно превышает риск возможных побочных эффектов [2].

Проблема возможных побочных реакций ЦКВ вызвала широкую обеспокоенность. В некоторых странах, включая Японию, проведение профилактических прививок было приостановлено [4]. Помимо риска поствакцинальных

реакций была обозначена проблема непродолжительного поствакцинального иммунитета. Решение этой проблемы видели в проведении ревакцинаций среди детей старшего возраста. Однако из-за реактогенности ЦКВ это невозможно было реализовать [3].

Были предприняты попытки по разработке менее реактогенных и более стандартизованных бесклеточных коклюшных вакцин (БКВ) [3]. БКВ включают в состав от одного до пяти очищенных антигенов: коклюшный анатоксин, филamentозный гемагглютинин, пертактин, агглютиногены (фимбрии) типов 2 и 3. В клинических исследованиях продемонстрирована безопасность и иммуногенная активность БКВ [5]. Тем не менее многолетнее (более 20 лет) применение БКВ не оправдало всех ожиданий. В странах, где используется исключительно БКВ, несмотря на высокий уровень охвата населения вакцинацией, отмечался рост заболеваемости и зарегистрированы эпидемии, что свидетельствовало о кратковременности адаптивного иммунитета, индуцированного БКВ [6–8]. Предложено несколько основных причин данного явления: неоптимальный баланс

¹ <https://www.cdc.gov/pertussis/vaccines/index.html>

клеточно-опосредованных иммунных реакций (Th1, Th2, Th17) [9]; отсутствие ключевых защитных антигенов в составе вакцины; несбалансированное содержание антигенов в составе вакцины или их недостаточное количество; различия между защитными антигенами в вакцине и аналогичными антигенами современных циркулирующих штаммов [10–13].

Таким образом, в настоящее время сложилась непростая ситуация в области вакцинопрофилактики коклюша: существует ЦКВ, доказавшая свою эффективность, но обладающая реактогенностью, и менее эффективная, но малореактогенная БКВ. Очевидно, что необходимы усилия для совершенствования существующих вакцин. Требуется снизить реактогенность ЦКВ при сохранении ее защитной активности и повысить эффективность БКВ. Защитную активность БКВ можно увеличить путем изменения соотношения антигенов в составе вакцины, добавления новых антигенов [14, 15], использования новых адъювантов, способных изменить характер иммунного ответа (баланс Th1, Th2, Th17) [16], оптимизации путей доставки антигенов [14]. Реализация этих шагов потребует проведения доклинических и клинических исследований, дополнительного финансирования, значительных временных затрат.

Снижение специфической токсичности ЦКВ возможно осуществить, вероятно, менее затратными способами. К ним относятся уменьшение количества убитых бактериальных клеток в дозе вакцины [17], генетическая модификация токсинов *B. pertussis* [18], а также изменения в технологическом процессе производства ЦКВ.

В рамках данной работы рассматривалась возможность снижения токсических свойств ЦКВ путем воздействия на технологический процесс изготовления коклюшной вакцины.

Цель работы — оценка токсических свойств ЦКВ в экспериментах на мышах при изменении условий в процессе хранения вакцины.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Штаммы. В работе использовали производственные штаммы *B. pertussis* 38, 305, 312, 475, 703, хранящиеся в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (ФГБУ «НЦЭСМП»

Минздрава России) и применяемые для изготовления ЦКВ как компонента АКДС-вакцины, а также циркулирующие штаммы, выделенные от больных коклюшем детей: 16-16, 28(1)-18, 30-18, 31(2)-17, 33-18.

Экспериментальные животные. Исследования проводили на аутбредных мышах обоего пола массой тела 15 ± 1 г, полученных из питомника филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России. Животных рандомизировали с формированием десяти опытных групп и одной контрольной, каждая из которых включала по 10 особей (равномерное распределение с учетом разницы в массе тела). Мышам опытных групп внутривенно (в/в) вводили образцы вакцины (10 образцов, указанных в разделе «Штаммы»), мышам контрольной группы — в/в 0,9% раствор натрия хлорида с тиомерсалом (консервант). Период наблюдения за характеристиками ЦКВ был разделен на 4 интервала: 1–3 мес., 4–6 мес., 7–9 мес. и 10–12 мес. Для 10 образцов вакцины в каждом временном интервале оценивали специфическую безопасность. В течение периода исследования животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде.

Протокол исследования с использованием экспериментальных животных был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (№ 8 от 03.12.2024). Все исследования проводились в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях², принципами Международного совета медицинских научных обществ (CIOMS)³, Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях⁴, ГОСТ 33216-2014⁵.

Методы

Подготовка образцов вакцины. Из штаммов *B. pertussis* в соответствии с МУК 4.2.2317-08 «Отбор, проверка и хранение производственных штаммов коклюшных, паракоклюшных и бронхосептикозных бактерий» были изготовлены 10 образцов ЦКВ. Их готовили на основе суспензии из агаровой бактериальной культуры возбудителя, в которую были внесены инактивирующий агент (формальдегид) и тиомерсал в требуемых

² https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf

³ <https://cioms.ch/>

⁴ European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg; 1986. <https://norecopa.no/media/2iyd5h/ets-123-original.pdf>

⁵ ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

концентрациях. С этой целью культуру *B. pertussis* выращивали на среде КУА (АО «НПО «Микроген», филиал «НПО «Питательные среды», Россия). В среду добавляли кровь барана дефибрированную (АО «ЭКОлаб», Россия) до концентрации 10%. Далее с 3 или 4 пассажа проводили смыв бактериальной культуры 0,9% раствором натрия хлорида, содержащим формальдегид (PanReas AppliChem). Концентрацию бактериальных клеток в суспензии определяли с помощью фармакопейного стандартного образца мутности бактериальных взвесей 10 МЕ (ФСО 3.1.00085, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). В качестве консерванта в смывную коклюшную суспензию (КС) вносили тиомерсал (Sigma-Aldrich). Изготовленные образцы вакцины хранили при 5 ± 3 °C на протяжении 12 мес. (срок хранения ЦКВ).

Оценка токсического действия вакцины.

Из емкости, в которой хранили изготовленную ЦКВ, в указанные выше интервалы времени отбирали пробы вакцины для оценки токсического действия. С этой целью определяли значения показателя «Специфическая безопасность» образцов вакцин на протяжении 12 мес. (срок наблюдения) в экспериментах на мышах в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) ФС.3.3.1.0010.15⁶. Этот показатель рекомендован Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и используется на производстве при оценке остаточной токсичности ЦКВ⁷. Мышам опытных групп вводили в/б дозу вакцины с концентрацией убитых клеток, эквивалентной таковой в коммерческих вакцинах (10^9 клеток/0,5 мл). Контрольным животным вводили 0,5 мл 0,9% раствора натрия хлорида с концентрацией тиомерсала, соответствующей его содержанию в изготовленных вакцинах. Взвешивание мышей проводили до введения препарата, а также на 1 сут, через 72 ч и на 7 сут после введения. Выбор сроков взвешивания животных обусловлен временем максимального проявления действия основных токсинов *B. pertussis* – липоолигосахарида (ЛОС) и коклюшного токсина (КТ): ЛОС оказывает свое действие через 1 сут после введения препарата, КТ – на 7 сут⁸. Восстановление массы тела мышей до исходных значений через 72 ч после введения вакцины служит одним из критериев в рамках данного подхода. Все исследованные образцы ЦКВ соответствовали этому требованию.

Показатель «Специфическая безопасность» для образцов вакцин рассчитывали как отношение изменения массы тела опытных животных (после введения вакцины) к изменению массы тела контрольных животных на 7 сут, выраженное в процентах. Согласно требованиям ГФ РФ ФС.3.3.1.0010.15⁹, значение этого показателя через 7 сут после введения препарата должно составлять не менее 60%. Меньшее значение показателя указывает на высокую остаточную токсичность вакцины, обусловленную содержанием необезвреженного КТ. Токсическое действие ЛОС оценивали по изменению массы тела мышей на 1 сут (%) после введения препарата. Требования к величине показателя, отражающего токсическое действие препарата на 1 сут после введения вакцины, в документах ВОЗ и ГФ РФ отсутствуют.

Для определения изменения показателя массы тела мышей вычисляли разницу между показателем массы, зафиксированной через 1 или 7 сут, и массы тела, определенной до введения препарата (исходная масса). Значения изменения массы тела мышей выражали в процентах относительно исходного веса.

Статистическая обработка данных. За период наблюдения проведено более 100 измерений значений показателей, отражающих остаточную токсичность препарата. Полученные данные по изменению массы тела мышей в опытных группах и значения показателя специфической безопасности группировали (с учетом четырех интервалов срока хранения вакцины: 1–3 мес., 4–6 мес., 7–9 мес. и 10–12 мес.) и рассчитывали среднее арифметическое значение и стандартное отклонение. Взаимосвязь между показателями специфической безопасности вакцины и изменением массы тела мышей на 1 и 7 сут устанавливали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена¹⁰ [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика изменения массы тела мышей на 1 и 7 сут после введения им исследуемых образцов ЦКВ, выдержанных с инактивирующим агентом в условиях хранения в зависимости от его срока, представлена на *рисунке 1*.

Расчетные значения изменения массы тела мышей представлены в *таблице 1*. Установлено, что при введении животным КС, выдержанной

⁶ ФС.3.3.1.0010.15 Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная (АКДС-вакцина). Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

⁷ Recommendations for whole-cell pertussis vaccine, Annex 6, Technical report series No. 941. WHO; 2007.

⁸ Там же.

⁹ ФС.3.3.1.0010.15 Вакцина коклюшно-дифтерийно-столбнячная адсорбированная (АКДС-вакцина). Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4; 2018.

¹⁰ <https://infamed.com/stat/>

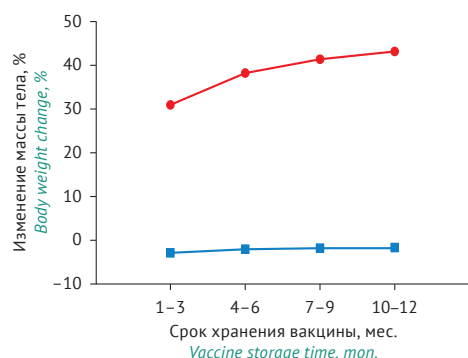


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Изменение массы тела мышей после введения цельноклеточной коклюшной вакцины, выдержанной с инактивирующим агентом в условиях хранения на разных сроках. Красным цветом изображена кривая, отражающая изменение массы тела, определенное на 7 сут после введения вакцины; синим цветом — кривая, отражающая изменение массы тела на 1 сут после введения вакцины. Данные представлены в виде средних арифметических значений.

Fig. 1. Time course of changes in the body weight of mice after administration of whole-cell pertussis vaccines that contained the inactivating agent and were stored under recommended conditions. The red line shows the body weight changes on Day 7 after vaccine administration, and the blue line reflects the body weight changes on Day 1 after vaccine administration. The data are presented as arithmetic means.

с инактивирующим агентом в течение 1–3 мес., средний прирост массы тела мышей через 7 сут после введения вакцины составил 31,0% по отношению к исходному весу, а в случае введения КС, инактивированной на протяжении других сроков хранения, прирост массы тела составил: 4–6 мес. — 38,28%, 7–9 мес. — 41,47%, 10–12 мес. — 43,22%.

Так как действие остаточного количества необезвреженного КТ, присутствующего

в вакцине, максимально проявляется на 7 сут¹¹, то по динамике значений изменения массы тела можно сделать вывод о степени эффективности процесса обезвреживания КТ в КС. Так, если прирост массы тела мышей через 1–3 мес. составил 31,0%, а в конце срока хранения (10–12 мес.) — 43,22%, то общий прирост массы тела составил 12,22%. Следовательно, в ЦКВ, инактивированной на протяжении 10–12 мес. в условиях хранения, содержится меньшее количество активного КТ по сравнению с вакциной на начальном этапе хранения, что проявляется в более выраженном приросте массы тела животных. Можно заключить, что обезвреживание КТ происходит на протяжении всего срока хранения вакцины (12 мес.).

Поскольку, предположительно, на 1 сут после введения вакцины проявляется действие содержащегося в препарате ЛОС¹², то определение значений изменения массы тела мышей на 1 сут позволяет оценить токсическое действие ЛОС. Показатели прироста массы тела мышей на 1 сут после введения КС имели отрицательные значения, что свидетельствует о значительном токсическом действии ЛОС. Следует отметить, что значения прироста массы тела с течением времени достоверно не изменялись.

При введении животным КС, выдержанной с инактивирующим агентом в течение 1–3 мес., среднее значение изменения массы тела мышей на 1 сут после введения вакцины составило (-2,84%) относительно исходного веса (табл. 1). В случае введения КС, инактивированной на протяжении других сроков хранения (4–6, 7–9 и 10–12 мес.), этот показатель составил (-1,99%), (-1,79%), (-1,62%) соответственно. Различия между значениями на начальном

Таблица 1. Изменения массы тела мышей на 1 и 7 сутки после введения цельноклеточной коклюшной вакцины (ЦКВ) и значения показателя специфической безопасности вакцины

Table 1. Changes in the body weight of mice on Days 1 and 7 after administration of whole-cell pertussis vaccines (WCPVs) and the specific toxicity index values

Срок инаktivации ЦКВ WCPV inactivation time	Изменение массы тела мышей, % Changes in the body weight of mice, %		Показатель специфической безопасности, % Specific toxicity index, %
	на 1 сут on Day 1	на 7 сут on Day 7	
1–3 мес. 1–3 months	-2,84 (-4,19–(-1,50))	31,00 (28,46–33,52)	69,4 (59,57–79,20)
4–6 мес. 4–6 months	-1,99 (-2,64–(-1,35))	38,28 (33,50–43,06)	76,3 (63,18–89,37)
7–9 мес. 7–9 months	-1,79 (-2,48–(-0,09))	41,47 (40,12–42,82)	81,7 (66,32–96,99)
10–12 мес. 10–12 months	-1,62 (-3,14–(-0,09))	43,22 (38,36–46,08)	84,3 (77,78–90,85)

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

¹¹ Recommendations for whole-cell pertussis vaccine, Annex 6, Technical report series No. 941. WHO; 2007.

¹² Там же.

и конечном этапах хранения КС оказались статистически незначимы и составили 1,22%. Эти результаты свидетельствуют о том, что формальдегид, содержащийся в ЦКВ, практически не оказывает детоксицирующего эффекта на ЛОС и его токсическое действие при хранении вакцины изменяется крайне незначительно.

Величина показателя специфической безопасности ЦКВ в зависимости от срока выдерживания с инактивирующим агентом в условиях хранения (рис. 2) увеличивается в интервале наблюдения. Следовательно, процесс обезвреживания КТ после добавления в КС формальдегида продолжается в течение всего срока хранения вакцины. Так, через 1–3 мес. выдерживания КС с инактивирующим агентом показатель специфической безопасности составлял 69,4%, через 4–6 мес. – 76,3%, через 7–9 мес. – 81,7%, через 10–12 мес. – 84,3%. Таким образом, остаточная токсичность, определяемая косвенно через показатель специфической безопасности, снизилась на 14,9%.

Следует отметить, что представленные результаты получены на образцах ЦКВ, изготовленных с использованием твердой питательной среды КУА. Поэтому сделанные выводы применимы исключительно к процессу производства, в котором культивирование бактериальной массы осуществляется на твердой среде КУА.

Срок хранения цельноклеточного коклюшного компонента на предприятии до сведения (объединения) его с дифтерийным и столбнячным анатоксинами в АКДС-вакцину составляет 1 год. В течение этого срока, начиная с 3 мес. хранения, ЦКВ может использоваться для сведения с компонентами АКДС-вакцины. Согласно представленным результатам процесс обезвреживания КТ носит пролонгированный характер и продолжается как в течение 1 года хранения, так и после его истечения (неопубликованные данные). Следовательно, целесообразно использовать ЦКВ для сведения ее с другими компонентами АКДС-вакцины ближе к концу срока хранения, когда остаточное количество КТ в вакцине максимально обезврежено. Это позволит минимизировать содержание необезвреженного КТ в дозе вакцины, предназначенной для введения ребенку. Исходя из этого производителям АКДС-вакцин рекомендуется для сведения с дифтерийным и столбнячным анатоксинами использовать ЦКВ, находящуюся на хранении не менее 10–12 мес., то есть в конце допустимого срока хранения.

Для оценки взаимосвязи между изучаемыми показателями был проведен корреляционный анализ с использованием коэффициента

корреляции Спирмена. Величина коэффициента Спирмена, характеризующая силу связи между значениями специфической безопасности и приростом массы тела мышей, составила: на 7 сут – 0,55 ($p < 0,01$), что указывает на заметную силу связи; на 1 сут – 0,349 ($p < 0,01$), что свидетельствует об умеренной силе связи. Таким образом, показатель качества вакцины «Специфическая безопасность» отражает наличие как активного КТ, так и ЛОС в ЦКВ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Длительное наблюдение за эффективностью БКВ позволило сделать заключение, что эти вакцины и применяемые программы вакцинации не обеспечивают полного контроля над заболеваемостью коклюшем [20, 21]. Более того, высказано предположение о наличии связи между использованием БКВ и ростом заболеваемости коклюшем в странах Европы, США, Японии [10, 22–24]. В настоящее время в Российской Федерации также наблюдается рост заболеваемости коклюшем. Так, показатель заболеваемости коклюшем в 2023 г. составил 36,2 случая на 100 тыс. населения, что превышает уровень заболеваемости 2022 г. в 16,4 раза [25, 26]. Учитывая тот факт, что в России практически отказались от использования отечественной ЦКВ и широко используют зарубежные БКВ (например, Пентаксим, Адасель), можно предположить, что одной из причин роста заболеваемости коклюшем является масштабное использование для вакцинации детского населения зарубежных бесклеточных вакцин. Для проверки данного предположения необходимо провести анализ корреляционной

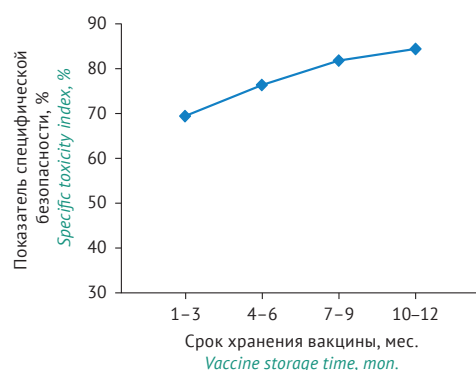


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Изменение показателя специфической безопасности цельноклеточной коклюшной вакцины, выдержанной с инактивирующим агентом в условиях хранения на разных сроках. Данные представлены в виде средних арифметических значений.

Fig. 2. Time course of changes in the specific toxicity index of whole-cell pertussis vaccines that contained the inactivating agent and were stored under recommended conditions. The data are presented as arithmetic means.

взаимосвязи между количеством использованных в Российской Федерации доз ЦКВ и БКВ и уровнем заболеваемости коклюшем.

Возрождение коклюша поднимает перед обществом проблему профилактики заболевания среди населения, особенно среди младенцев и детей младшего возраста, наиболее подверженных инфекции.

Альтернативой БКВ является ЦКВ, которая доказала свою эффективность в течение многолетнего периода использования [1]. ВОЗ высказано мнение о том, что опасения по поводу реактогенности ЦКВ необоснованно преувеличены, и рекомендовано продолжить использование этих вакцин в соответствии с утвержденными национальными календарями профилактических прививок¹³. Несмотря на это существующая настороженность в обществе к ЦКВ, хотя она в определенной мере оправдана, ограничивает широкое применение АКДС-вакцины [27].

В настоящее время предпринимаются попытки снизить остаточную токсичность ЦКВ, обусловленную ЛОС, посредством его экстракции из коклюшной бактериальной культуры [28] и других методов [29]. Было установлено, что ЛОС, помимо токсического эффекта, обладает выраженной защитной активностью¹⁴ и рассматривается как потенциальный кандидат для включения в состав БКВ.

Разрабатываются генно-инженерные подходы к конструированию новых вакцин. Предполагается, что вакцины, содержащие генетически инактивированные коклюшные токсины, смогут вызывать длительный иммунный ответ, аналогичный реакции организма при естественной инфекции. В Российской Федерации и Франции ведутся разработки живых аттенуированных вакцин для интраназального применения, которые находятся на стадии клинических исследований [30–33]. От разработчиков этих вакцин требуются доказательства генетической стабильности препаратов, их безопасности и исключения возможности передачи штамма контактным лицам [34]. Новые вакцины должны соответствовать ряду требований: обеспечение безопасности, индукция длительного эффективного иммунитета, минимизация влияния антигенного дрейфа, индукция образования бактерицидных антител, исключение передачи бактерий *B. pertussis*.

Таким образом, в настоящее время исследования идут в разных направлениях: создание новых вакцин и совершенствование имеющихся.

В ходе данного исследования авторами продемонстрирована возможность снижения остаточной токсичности ЦКВ. Был установлен факт длительного обезвреживающего действия формальдегида на КТ убитых бактерий *B. pertussis*. В дальнейшем авторами планируется представить рекомендации производителям по использованию ЦКВ для сведения с дифтерийным и столбнячным анатоксинами в АКДС-вакцину в конце допустимого срока ее хранения, когда КТ в значительной степени обезврежен. Это позволит повысить безопасность ЦКВ и в определенной степени снизить реактогенность. Повышение качества АКДС-вакцины обеспечит более широкое ее применение в профилактических программах, способствуя успешному контролю над коклюшной инфекцией.

Проблема снижения токсических свойств ЛОС в ЦКВ остается актуальной. Эндотоксичность ЛОС обусловлена входящими в его структуру липидами А и Х. Разрушение бактериальных клеток *B. pertussis* приводит к высвобождению липидов в кровь, что может вызывать серьезные токсические реакции [35]. Из-за влияния на остаточную токсичность ЦКВ в настоящее время ЛОС не используется в качестве защитного антигена в БКВ.

Важно отметить, что приготовление образцов ЦКВ в рамках данной работы проводилось в соответствии с технологическим процессом, применяемым на производстве при изготовлении коклюшной вакцины. Соблюдение всех требований процесса обеспечивает сохранение биологических свойств производственных штаммов, включая важный показатель качества вакцины — защитную активность. Более подробное изучение этого аспекта требует дополнительных исследований.

ВЫВОДЫ

1. При введении мышам коклюшной суспензии, выдержанной с инактивирующим агентом (формальдегид) в течение 1–3 мес. в условиях хранения, средний прирост массы тела мышей через 7 сут после введения вакцины составил 31,0% по отношению к исходному весу, а в случае инаktivации в течение 10–12 мес. — 43,22% (общий прирост — 12,22%). Это указывает на меньшее количество активного коклюшного токсина в ЦКВ через 12 мес. Следовательно, процесс обезвреживания коклюшного токсина носит пролонгированный

¹³ Revised guidance on the choice of pertussis vaccines. Wkly Epidemiol Rec. 2014;89(30):337–44.

Pertussis Vaccines: WHO position paper — August 2015. Wkly Epidemiol Rec. 2015;90(35):433–60.

¹⁴ Селезнева Т.С. Научно-эпидемиологическое обоснование снижения антигенной нагрузки АКДС-вакцины в условиях нового календаря прививок: дис. ... канд. мед. наук. М.; 1986.

- характер и продолжается на протяжении всего срока хранения вакцины (12 мес.).
2. Повышение значений показателя «Специфическая безопасность» ЦКВ в процессе ее хранения с 69,4% (через 1–3 мес.) до 84,3% (через 10–12 мес.) подтверждает снижение остаточной токсичности вакцины после 10–12 мес. хранения. Для повышения безопасности АКДС-вакцины целесообразно использовать ЦКВ для сведения с другими компонентами АКДС-вакцины после 10–12 мес. ее хранения в регламентированных условиях, когда остаточное содержание коклюшного токсина в вакцине максимально обезврежено.
 3. Введение мышам коклюшной суспензии после ее выдерживания с инактивирующим агентом приводило к снижению массы тела мышей на 1 сут после введения вакцины. Этот эффект регистрировался как на начальном, так и конечном этапах хранения вакцины, что указывает на сохранение токсического воздействия, связанного с наличием ЛОС в ЦКВ даже спустя 10–12 мес. и недостаточном детоксицирующем действии формальдегида на ЛОС *B. pertussis*. Установление возможных путей для снижения токсических свойств ЛОС в вакцине требует дальнейших исследований.

Литература/References

1. Klein NP. Licensed pertussis vaccines in the United States. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(9):2684–90. <https://doi.org/10.4161/hv.29576>
2. Amirthalingam G, Gupta S, Campbell H. Pertussis immunization and control in England and Wales, 1957 to 2012: A historical review. *Euro Surveill.* 2013;18(38):20587. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20587>
3. Guiso N, Meade BD, Wirsing von König CH. Pertussis vaccines: The first hundred years. *Vaccine.* 2020;38(5):1271–6. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.11.022>
4. Sato Y, Kimura M, Fukumi H. Development of a pertussis component vaccine in Japan. *Lancet.* 1984;1(8369):122–6. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(84\)90061-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(84)90061-8)
5. Edwards KM, Meade BD, Decker MD, Reed GF, Rennels MB, Steinhoff MC, et al. Comparison of 13 acellular pertussis vaccines: Overview and serologic response. *Pediatrics.* 1995;96(3 Pt 2):548–57. PMID: 7659475
6. Sheridan SL, Ware RS, Grimwood K, Lambert SB. Number and order of whole cell pertussis vaccines in infant and disease protection. *JAMA.* 2012;308(5):454–6. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.6364>
7. Klein NP, Bartlett J, Rowhani-Rahbar A, Fireman B, Baxter R. Waning protection after fifth dose of acellular pertussis vaccine in children. *N Engl J Med.* 2012;367(11):1012–9. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1200850>
8. Misegades LK, Winter K, Harriman K, Talarico J, Messonnier NE, Clark TA, et al. Association of childhood pertussis with receipt of 5 doses of pertussis vaccine by time since last vaccine dose, California, 2010. *JAMA.* 2012;308(20):2126–32. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.14939>
9. Ross PJ, Sutton CE, Higgins S, Allen AC, Walsh K, Misiak A, et al. Relative contribution of Th1 and Th17 cells in adaptive immunity to *Bordetella pertussis*: Towards the rational design of an improved acellular pertussis vaccine. *PLoS Pathog.* 2013;9(4):e1003264. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003264>
10. Mooi FR, NA VDM, De Melker HE. Pertussis resurgence: Waning immunity and pathogen adaptation – two sides of the same coin. *Epidemiol Infect.* 2014;142(4):685–94. <https://doi.org/10.1017/s0950268813000071>
11. Koide K, Yao S, Chiang CS, Thuy PTB, Nga DTT, Huong DT, et al. Genotyping and macrolide-resistant mutation of *Bordetella pertussis* in East and South-East Asia. *J Glob Antimicrob Resist.* 2022;31:263–9. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.10.007>
12. Ma L, Caulfield A, Dewar KK, Harvill ET. Pertactin-deficient *Bordetella pertussis*, vaccine-driven evolution, and reemergence of pertussis. *Emerg Infect Dis.* 2021;27(6):1561–6. <https://doi.org/10.3201/eid2706.203850>
13. Ring N, Davies H, Morgan J, Sundaresan M, Tiong A, Preston A, et al. Comparative genomics of *Bordetella pertussis* isolates from New Zealand, a country with an uncommonly high incidence of whooping cough. *Microb Genom.* 2022;8(1):000756. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000756>
14. Loch C, Mielcarek N. New pertussis vaccination approaches: En route to protect newborns? *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;66(2):121–33. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2012.00988.x>
15. Gao J, Huang L, Luo S, Qiao R, Liu F, Li X. A novel vaccine formulation candidate based on lipooligosaccharides and pertussis toxin against *Bordetella pertussis*. *Front Immunol.* 2023;14:1124695. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1124695>
16. Polewicz M, Gracia A, Garlapati S, van Kessel J, Strom S, Halperin SA, et al. Novel vaccine formulations against pertussis offer earlier onset of immunity and provide protection in the presence of maternal antibodies. *Vaccine.* 2013;31(31):3148–55. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.008>
17. Чупринина РП, Алексеева ИА. Возможность повышения иммуногенной активности и стабильности цельноклеточного коклюшного компонента комбинированных вакцин. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2014;(2):89–95. Чупринина РП, Алексеева ИА. The possibility of increasing the potency and stability of whole-cell pertussis component of combined vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2014;(2):89–95 (In Russ.). EDN: SBEUQR
18. Джидарян АА, Матуа АЗ, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Дьяков ИН и др. Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян вида павиан гамадрил. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022;99(2):203–14. Djidaryan AA, Matua AZ, Medkova AYU, Semin EG, Sinyashina LN, Dyakov IN, et al. Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine GamLVP in the experimental infant hamadryas baboon model. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2022;99(2):203–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>
19. Glantz SA, ed. *Primer of biostatistics.* New York: McGraw-Hill; 1992.
20. Chiappini E, Stival A, Galli L, de Martino M. Pertussis re-emergence in the post-vaccination era. *BMC Infect Dis.* 2013;13:151. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-151>
21. Clark TA, Messonnier NE, Hadler SC. Pertussis control: Time for something new? *Trends Microbiol.* 2012;20(5):211–3. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2012.03.003>
22. Esposito S, Stefanelli P, Fry NK, Fedele G, He Q, Paterson P, et al. Pertussis prevention: Reasons for resurgence, and differences in the current acellular pertussis vaccines. *Front Immunol.* 2019;10:1344. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01344>
23. Zomer A, Otsuka N, Hiramatsu Y, Kamachi K, Nishimura N, Ozaki T, et al. *Bordetella pertussis* population dynamics and phylogeny in Japan after adoption of acellular pertussis vaccines. *Microb Genom.* 2018;4(5):e000180. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000180>
24. Mir-Cros A, Moreno-Mingorance A, Martín-Gómez MT, Codina G, Cornejo-Sánchez T, Rajadell M, et al. Population dynamics and antigenic drift of *Bordetella pertussis* following whole cell vaccine replacement, Barcelona, Spain, 1986–2015. *Emerg Microbes Infect.* 2019;8(1):1711–20. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1694395>
25. Басов АА, Высочанская СО, Цвиркун ОВ, Белова ТР, Адугузлов СЭ, Жернов ЮВ и др. Критерии оценки эпидемиологической ситуации коклюша в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2024;23(1):4–13. Basov AA, Vysochanskaya SO, Tsvirkun OV, Belova TR, Aduguzelov SE, Zhernov YuV, et al. Criteria for assessing the epidemiological situation of pertussis in Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2024;23(1):4–13.

- logy and Vaccinal Prevention. 2024;23(1):4–13 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13>
26. Борисова ОЮ, Андриевская ИЮ, Пименова АС, Гадуа НТ, Чагина ИА, Борисова АБ и др. Генотипическая характеристика штаммов *Bordetella pertussis* — кандидатов для получения коклюшного компонента вакцинных препаратов (сообщение I). *Вестник РГМУ*. 2024;(2):4–10. Borisova OYu, Andrievskaya IYu, Pimenova AS, Gadua NT, Chagina IA, Borisova AB, et al. Genotypic characteristics of *Bordetella pertussis*, candidate strains for production of pertussis component of vaccines (statement I). *Bulletin of RSMU*. 2024;(2):4–10 (In Russ.). <https://doi.org/10.24075/vrgmu.2024.017>
 27. Терешкина НВ, Снегирева ИИ, Дармостукова МА. Возможные причины и меры по минимизации рисков развития абсцессов после прививки АКДС-вакциной. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2021;9(1):3–14. Tereshkina NV, Snegireva II, Darmostukova MA. Possible causes of and measures to minimise risks of abscesses following DTP vaccination. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2021; 9(1):3–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2312-7821-2021-9-1-3-14>
 28. Dias WO, van der Ark AA, Sakauchi MA, Kubrusly FS, Prestes AF, Borges MM, et al. An improved whole cell pertussis vaccine with reduced content of endotoxin. *Hum Vaccin Immunother*. 2013;9(2):339–48. <https://doi.org/10.4161/hv.22847>
 29. Yilmaz Çolak Ç, Tefon Öztürk BE. *Bordetella pertussis* and outer membrane vesicles. *Pathogens and Global Health*. 2023;117(4):342–55. <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2117937>
 30. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Сюндюкова РА, Дьяков ИН и др. Клинические исследования безопасности и переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):114–9. Medkova AYU, Lidzhiyeva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Syundyukova RA, Dyakov IN, et al. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Drug Development & Registration*. 2021;10(1):114–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119>
 31. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Сюндюкова РА, Снегирева НА и др. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2021;98(6):706–20. Medkova AYU, Lidzhiyeva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Syundyukova RA, Snegireva NA, et al. Immunogenicity of the drug “Live intranasal vaccine for the prevention of pertussis” (GamLPV) with a single use in healthy volunteers. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(6):706–20 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>
 32. Skerry CM, Cassidy JP, English K, Feunou-Feunou P, Loch C, Mahon BP. A live attenuated *Bordetella pertussis* candidate vaccine does not cause disseminating infection in gamma interferon receptor knockout mice. *Clin Vaccine Immunol*. 2009;16(9):1344–51. <https://doi.org/10.1128/01.00082-09>
 33. Feunou PF, Kammoun H, Debie AS, Mielcarek N, Loch C. Long-term immunity against pertussis induced by a single nasal administration of live attenuated *B. pertussis* BPZE1. *Vaccine*. 2010;28(43):7047–53. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.08.017>
 34. Meade BD, Plotkin SA, Loch C. Possible options for new pertussis vaccines. *J Infect Dis*. 2014;209(Suppl):S24–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit531>
 35. Caroff M, Deprun C, Richards JC, Karibian D. Structural characterization of the lipid A of *Bordetella pertussis* 1414 endotoxin. *J Bacteriol*. 1994;176(16):5156–9. <https://doi.org/10.1128/jb.176.16.5156-5159.1994>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **И.А. Алексеева** — формирование цели и задач исследования; анализ и систематизация данных научной литературы, анализ и интерпретация результатов исследования, написание и редактирование текста рукописи; **Д.Н. Лепихова** — проведение экспериментальных исследований, сбор и анализ данных научной литературы, редактирование текста рукописи; **О.Ю. Борисова** — планирование исследования, обобщение экспериментальных данных, анализ и интерпретация результатов, анализ и обобщение данных научной литературы, редактирование текста рукописи; **А.С. Пименова** — проведение экспериментальных исследований, анализ и интерпретация результатов исследования; редактирование текста рукописи; **И.Ю. Андриевская, И.В. Ибрагимхалилова** — проведение экспериментальных исследований, сбор и анализ данных научной литературы, работа с графическим материалом.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования с использованием экспериментальных животных был одобрен локальным этическим комитетом ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России (протокол № 8 от 03.12.2024).

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **I.A. Alekseeva** formulated the study aim and objectives, analysed and systematised literature data, analysed and interpreted the study results, and drafted and edited the manuscript. **D.N. Lepikhova** conducted experiments, collected and analysed literature data, and edited the manuscript. **O.Yu. Borisova** designed the study, analysed and interpreted literature data, summarised the experimental data obtained, analysed and interpreted the study results, and edited the manuscript. **A.S. Pimenova** conducted experiments, analysed and interpreted the study results, and edited the manuscript. **I.Yu. Andrievskaya, I.V. Ibragimkhalilova** conducted experiments, collected and analysed literature data, and worked with the graphical material.

Ethics approval. The protocol of the animal study was approved by the Local Ethics Committee at the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products of the Ministry of Health of the Russian Federation (Protocol No. 8 of 3 December 2024).

Об авторах / Authors

Алексеева Ирина Андреевна, д-р мед. наук / **Irina A. Alekseeva**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5586-2933>

Лепихова Дарья Николаевна / **Darya N. Lepikhova**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4061-8892>

Борисова Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, проф. / **Olga Yu. Borisova**, Dr. Sci. (Med.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6316-5046>

Пименова Алена Сергеевна, канд. мед. наук / **Alena S. Pimenova**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6914-3531>

Андриевская Ирина Юрьевна / **Irina Yu. Andrievskaya**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2997-942X>

Ибрагимхалилова Ильхамья Вейсаловна, канд. биол. наук / **Ilkhamya V. Ibragimkhalilova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-8002-2407>

Поступила 30.10.2024

После доработки 28.02.2025

Принята к публикации 21.03.2025

Received 30 October 2024

Revised 28 February 2025

Accepted 21 March 2025



Услуги ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России

ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России осуществляет следующие услуги:

Экспертиза

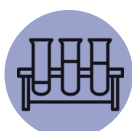


Экспертная помощь

E-mail:
expert_help@expmed.ru



Ввод в ГО



Ввод в гражданский оборот

E-mail:
osmibp@expmed.ru



Штаммы



Государственная коллекция патогенных микроорганизмов

E-mail:
general@expmed.ru



ФСО



Служба фармакопейных стандартных образцов и фармакопейных исследований

E-mail:
fso@expmed.ru



Трансфер



Центр трансфера медицинских технологий

E-mail:
ctmt@expmed.ru



Обучение

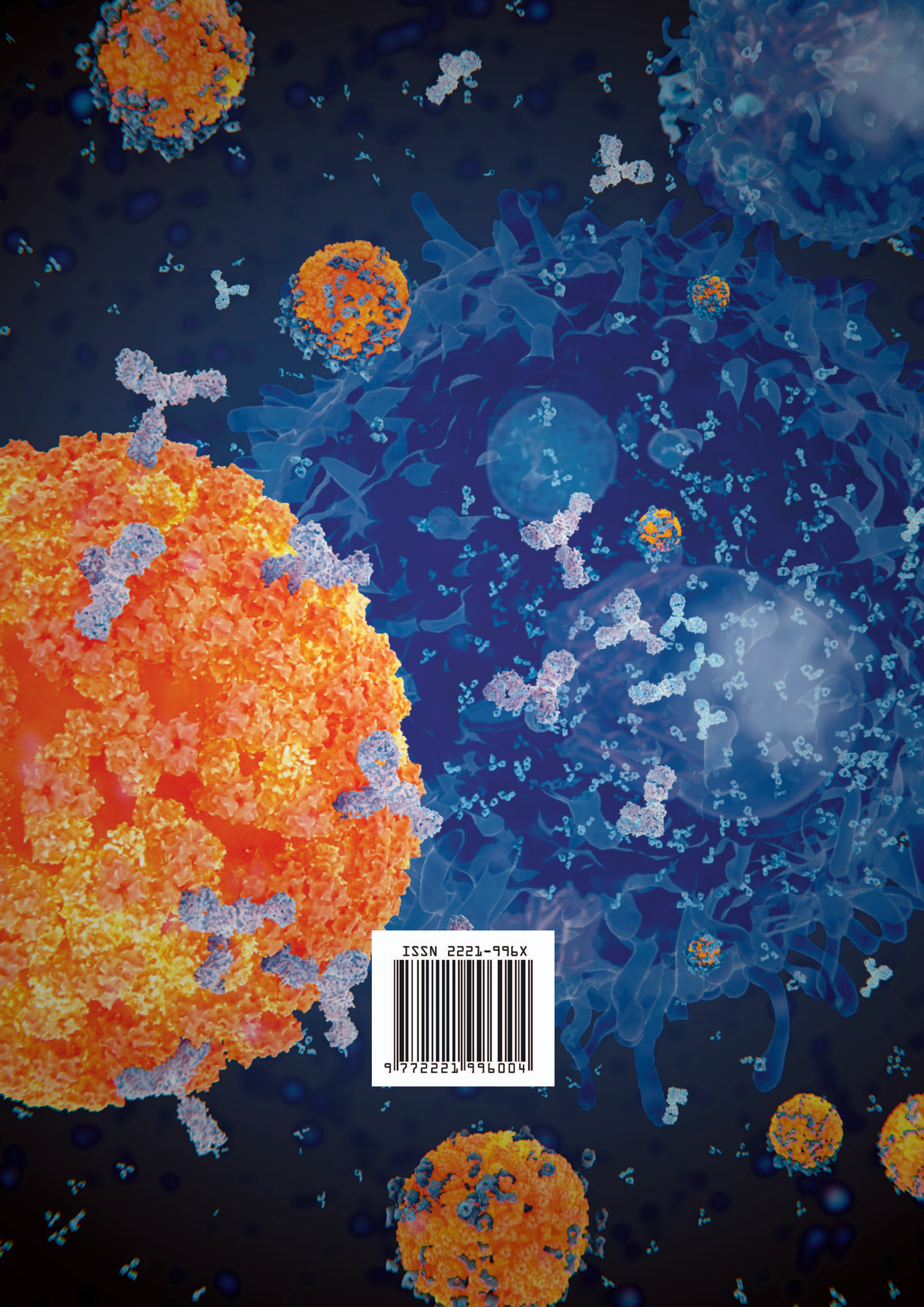


Центр образовательных программ

E-mail:
expert_help@expmed.ru



Приглашаем к сотрудничеству всех заинтересованных представителей фармацевтического сообщества



ISSN 2221-996X



9 772221 996004