

УДК 615.371.012.076.9

## РАЗРАБОТКА И ИЗУЧЕНИЕ ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ, НЕ СОДЕРЖАЩИХ ТИОМЕРСАЛ

*А. М. Николаева\**, *Д. В. Грязнова*, *В. Д. Семенова*, *Е. В. Пушкарева*,  
*А. Б. Перевозчиков*, *О. Ю. Соснина*

*НПО «Микроген», Пермское НПО «Биомед», г. Пермь, Россия*

## DEVELOPMENT AND STUDY OF VACCINE THIOMERSAL-FREE DRUGS

*A. M. Nikolaeva\**, *D. V. Gryaznova*, *V. D. Semenova*, *E. V. Pushkareva*,  
*A. B. Perevozchikov*, *O. Yu. Sosnina*

*SPA "Microgen", Perm SPA "Biomed", Perm, Russian Federation*

**Цель.** Получение и контроль экспериментальных серий адсорбированных дифтерийных и столбнячных анатоксинов, не содержащих тиомерсал, изучение стабильности вакцин при хранении; проведение сравнительного анализа полученных результатов и оценка сопоставимости препаратов с тиомерсалом и без него.

**Материалы и методы.** В качестве объекта изучения использованы экспериментальные серии препаратов «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин» без добавления тиомерсала и коммерческие серии данных препаратов, изготовленные с добавлением тиомерсала. Безопасность, эффективность вакцин и их физико-химические свойства изучали по общепринятым методикам.

**Результаты.** Данные по контролю экспериментальных серий (без тиомерсала) свидетельствуют о том, что препараты АДС-М-анатоксина, АД-М-анатоксина и АС-анатоксина соответствуют требованиям нормативной документации по всем показателям и практически не имеют различий с сериями с добавлением консерванта. В условиях хранения при температуре от 2 до 8 °С препараты без тиомерсала по физико-химическим свойствам и безопасности стабильны в течение всего срока годности, установленного для препаратов, содержащих тиомерсал. Специфическая активность экспериментальных серий препарата по окончании срока годности соответствует требованиям нормативной документации. На основании полученных данных были подготовлены документы для внесения изменений в регистрационные досье на препараты «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин».

**Выводы.** Разработанная на филиале ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Перми технология позволяет изготавливать вакцины без тиомерсала, которые по своим физико-химическим параметрам, безопасности и эффективности идентичны таковым с тиомерсалом.

**Ключевые слова.** Вакцины, анатоксины, тиомерсал.

**Aim.** To produce and control the experimental series of exhausted diphtheritic and tetanic anatoxins, not containing thiomersal, to study the vaccine storage stability, to conduct the comparative analysis of the obtained results and assess the comparability of drug containing thiomersal and free of it.

© Николаева А. М., Грязнова Д. В., Семенова В. Д., Пушкарева Е. В., Перевозчиков А. Б., Соснина О. Ю., 2014  
e-mail: a.m.nikolaeva@perm.microgen.ru

тел. 8 (342) 262 32 75

[Николаева А. М. (\*контактное лицо) – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе и инновационному развитию; Грязнова Д. В. – кандидат биологических наук, начальник цеха вакцинно-сывороточных препаратов; Семенова В. Д. – кандидат биологических наук, начальник отделения вакцинных препаратов; Пушкарева Е. В. – кандидат биологических наук, начальник отделения комбинированных вакцин; Перевозчиков А. В. – кандидат биологических наук, начальник отдела контроля качества; Соснина О. Ю. – кандидат биологических наук, начальник научного отдела].

**Materials and methods.** Experimental series of the drugs “ADS-M-anatoxin”, “AD-M-anatoxin” and “AS-anatoxin” free of thiomersal and commercial series of these preparations with thiomersal added were used as the object of studying. Safety, efficiency of vaccines and their physical-chemical properties were studied with generally accepted methods.

**Results.** The data on control of experimental series (thiomersal-free) prove that the drugs ADS-M-anatoxin, AD-M-anatoxin and AS-anatoxin correspond to the requirements of normative documentation by all the parameters and do not differ from the series with preservative added. In conditions of storage at the temperature of 2 to 8°C, thiomersal-free drugs by their physical-chemical properties and safety are stable during all the period of shelf life established for drugs containing thiomersal. Specific activity of experimental series of the drug on completion of its shelf life corresponds to normative documentation requirements. On the basis of the obtained data, documents for making changes in registration dossier regarding the drugs “ADS-M-anatoxin”, “AD-M-anatoxin” and “AS-anatoxin” were prepared.

**Conclusion.** The technology developed at Perm Branch of “SPA Microgen” of Ministry of Health of Russia permits to produce thiomersal-free vaccines which by their physical-chemical parameters, safety and efficiency are identical to thiomersal-containing vaccines.

**Key words.** Vaccines, anatoxins, thiomersal.

## ВВЕДЕНИЕ

Тиомерсал – это органическое соединение ртути ароматического ряда (орто-этилртутьтиосалицилат натрия). Тиомерсал получил распространение в фармакологии благодаря своим асептическим, бактерицидным и фунгицидным свойствам. С 1930-х гг. тиомерсал широко используется в качестве консерванта в вакцинах, препаратах антител, противоядиях, кожных пробах на аллергию, глазных и назальных препаратах.

В конце 1990-х гг. возникли сомнения в безопасности данного соединения из-за растущего количества сообщений о нежелательных эффектах, особенно аллергических реакциях, подозрении на взаимосвязь введения вакцин, содержащих тиомерсал, с аутизмом и из-за накопления нагрузки ртутью детей при рутинных вакцинациях, из-за чего возникли опасения неврологических нарушений [2, 3, 6]. К настоящему времени многочисленными исследованиями не найдено весомых доказательств небезопасности тиомерсалсодержащих вакцин.

Комитетом по патентованным лекарственным средствам ЕМЕА (Европейское агентство по оценке медицинских продуктов для общественности) рекомендовано использо-

вать вакцины, которые не содержат этого консерванта. Следует отметить, что в настоящее время в Европейском союзе использование тиомерсалсодержащих вакцин ограничено. В вакцинах для людей в Германии на сегодняшний день тиомерсал обычно не содержится.

Американская контролирующая организация FDA не рекомендовала применение вакцин, содержащих тиомерсал, для иммунизации детей, так как детский организм более чувствителен к соединениям ртути. Американская академия педиатрии в 1999 г. рекомендовала переход к вакцинам, не содержащим тиомерсал [5]. В США с 2001 г. традиционно рекомендуемые для детей в возрасте 6 лет и младше вакцины выпускаются в ампулах, рассчитанных на одну дозу, и не содержат тиомерсала в виде консерванта. Как и в детских, в вакцинах для подростков и взрослых применение тиомерсала было сокращено или полностью ликвидировано.

В Австралии содержащие тиомерсал вакцины исключены для применения у детей с 2000 г. (за исключением вакцины против гепатита В).

В некоторых странах СНГ (например, в Казахстане – с 2012 г.) также ограничено применение вакцин, содержащих тиомерсал.

В Российской Федерации в 1998 г. министром здравоохранения Т. Дмитриевой был подписан приказ №82 «Об исключении из государственного реестра лекарственных средств препаратов ртути и ее соединений», однако в производстве большинства вакцин тиомерсал продолжает использоваться.

В 2009 г. Приказом Минздравсоцразвития РФ №166 предписано проводить вакцинацию против гепатита В детей первого года жизни препаратами, не содержащими тиомерсал, кроме того, у школьников и подростков для профилактики гриппа также должны использоваться вакцины без тиомерсала.

В связи с этим на филиале ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Перми были проведены исследования по разработке технологии изготовления вакцин, не содержащих консервант.

*Цель работы* – получение и контроль экспериментальных серий препаратов «Анатоксин дифтерийно-столбнячный очищенный адсорбированный с уменьшенным содержанием антигенов жидкий (АДС-М-анатоксин)», «Анатоксин дифтерийный очищенный адсорбированный с уменьшенным содержанием антигенов жидкий (АД-М-анатоксин)», «Анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий (АС-анатоксин)» без тиомерсала, изучение стабильности вакцин при хранении, проведение сравнительного анализа полученных результатов и оценка сопоставимости препаратов «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин» с тиомерсалом и без него [1, 4].

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В качестве объекта изучения использованы экспериментальные серии препаратов «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин» без добавления тиомерсала и коммерческие серии данных препаратов, изготовленные из аналогичных компонентов с добавлением тиомерсала.

Безопасность препаратов и их физико-химические свойства изучали по общепринятым методикам (ФСП ЛС-000283, ФСП ЛС-000284, ФСП ЛС-000434).

Испытание препаратов «АДС-М-анатоксин» и «АД-М-анатоксин» по показателю «Специфическая активность» проводили методом определения потенциальной активности по выживаемости (рекомендован ВОЗ) с использованием лабораторных животных (морских свинок и белых мышей). Испытание препарата «АС-анатоксин» по показателю «Специфическая активность» осуществляли на белых мышах путем сопоставления иммуногенной активности изучаемых образцов и отраслевого стандартного образца иммуногенной активности адсорбированного столбнячного анатоксина (ОСО 42-28-247 П, ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России).

Препараты изучались на основе соблюдения этических правил гуманного отношения к животным.

Стабильность препаратов в процессе хранения изучали в течение регламентированного срока годности. Препараты хранили при рекомендуемой для вакцин температуре от 2 до 8 °С.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Для производства препаратов использовали компоненты: «Анатоксин дифтерийный очищенный концентрированный жидкий (ОКДА) (ЛС-002161, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, филиал в г. Перми), «Анатоксин столбнячный очищенный концентрированный жидкий (ОКСА) (Р N001040/01, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, филиал в г. Перми), адьювант – алюминия гидроксид (ЛСР-006456/09, ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, филиал в г. Перми).

В 1 дозе (0,5 мл) АДС-М-анатоксина содержится 5 флокулирующих единиц (*Lf*) дифтерийного анатоксина и 5 единиц связы-

вания (ЕС) столбнячного анатоксина; АД-М-анатоксина – 5 флокулирующих единиц (*Lf*) дифтерийного анатоксина; АС-анатоксина – 10 единиц связывания (ЕС) столбнячного анатоксина. Содержание алюминия гидроксида во всех препаратах не более 0,55 мг (в пересчете на алюминий), содержание формальдегида не более 50 мкг для АДС-М-анатоксина и АД-М-анатоксина и не более 100 мкг для АС-анатоксина.

При изготовлении коммерческих серий в препараты добавляли консервант тиомерсал. В готовой лекарственной форме его содержание в одной дозе конечного продукта составляло от 42,5 до 57,5 мкг. При производстве экспериментальных серий анатоксинов тиомерсал не использовался.

Результаты контроля экспериментальных серий (без тиомерсала) свидетельствовали о том, что препараты АДС-М-анатоксина, АД-М-анатоксина и АС-анатоксина соответствуют требованиям нормативной документации по всем показателям.

Препараты стерильны, безопасны, отсутствие тиомерсала не оказало влияния на

полноту сорбции анатоксинов, размер частиц и время седиментационной устойчивости препаратов.

Поскольку экспериментальные серии анатоксинов были получены из тех же компонентов, что и выпускаемые коммерческие серии, проведен сравнительный анализ результатов контроля экспериментальных и коммерческих серий препаратов.

Результаты контроля (табл. 1) показывают, что по физико-химическим свойствам препараты АДС-М-анатоксина, АД-М-анатоксина и АС-анатоксина без тиомерсала практически не имеют различий с сериями с добавлением консерванта.

По специфической активности все экспериментальные образцы выдерживают требования нормативной документации: для АС-анатоксина она составляла 199,36–247,6 МЕ/мл при норме не менее 80 МЕ/мл, для АДС-М-анатоксина по выживаемости животных составляла 100% для дифтерийного компонента и 70% для столбнячного компонента, для АД-М-анатоксина выживаемость животных – 100%.

Таблица 1

**Физико-химические показатели качества препаратов «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин», «АС-анатоксин» с тиомерсалом и без него**

Наименование препарата	рН (от 6,4 до 7,3)	Формальдегид (не более 100 (200)* мкг/мл)	Алюминия гидроксид (не более 1,1 мг/мл)	Тиомерсал (от 85 до 115 мкг/мл)
АДС-М-анатоксин без тиомерсала (3 серии)	6,61–6,7	10	0,60–0,62	Отсутствует
АДС-М-анатоксин с тиомерсалом (3 серии)	6,64–6,75	10	0,60–0,67	85,6–94,8
АД-М-анатоксин без тиомерсала (3 серии)	6,68–6,76	10	0,65–0,68	Отсутствует
АД-М-анатоксин с тиомерсалом (3 серии)	6,72–6,78	10	0,66–0,68	86,0–92,1
АС-анатоксин без тиомерсала (3 серии)	6,67–6,93	10	0,82–0,95	Отсутствует
АС-анатоксин с тиомерсалом (3 серии)	6,8–6,99	10	0,86–0,96	91,4–100,1

Примечание: \* не более 200 мкг/мл для АС-анатоксина.

Таблица 2

**Результаты контроля экспериментальных серий препаратов «АДС-М-анатоксин», «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин» без тиомерсала по показателю «Специфическая активность» по окончании срока годности (39 месяцев)**

Наименование препарата	Требования ФСП	Номер серии		
		1	2	3
АДС-М-анатоксин без тиомерсала	Выживаемость для дифтерийного компонента не менее 100%, для столбнячного компонента не менее 70%	100% 100%	100% 100%	100% 80%
АД-М-анатоксин без тиомерсала	Выживаемость 100%	100%	100%	100%
АС-анатоксин без тиомерсала	Не менее 80 МЕ/мл	259,3 МЕ/мл	183,2 МЕ/мл	175,8 МЕ/мл

При контроле экспериментальных серий в процессе хранения установлено, что препараты без тиомерсала в условиях хранения при температуре от 2 до 8 °С по физико-химическим свойствам и безопасности стабильны в течение срока годности, установленного для препаратов, содержащих тиомерсал (39 месяцев).

Специфическая активность экспериментальных серий препарата по окончании срока годности также соответствует требованиям ФСП (табл. 2).

На основании полученных данных был подготовлен комплект документов для внесения изменения в регистрационное досье на препарат «Анатоксин дифтерийно-столбнячный очищенный адсорбированный с уменьшенным содержанием антигенов жидкий (АДС-М-анатоксин)». По разработанной технологии была изготовлена производственная серия препарата «АДС-М-анатоксина» без тиомерсала, контроль которой проведен в установленном порядке в рамках экспертизы качества и экспертизы отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения лекарственных средств в ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России. Утвержденное изменение в регистрационных документах позволяет предприятию приступить к производству

и выпуску препарата «АДС-М-анатоксина» без консерванта.

В настоящее время подготовлены документы для внесения изменений в регистрационные досье на препараты «АД-М-анатоксин» и «АС-анатоксин» и разрабатывается технология изготовления бестиомерсальных вакцин, содержащих коклюшный компонент.

### Выводы

Таким образом, разработанная технология позволяет изготавливать вакцины без тиомерсала, которые по своим физико-химическим параметрам, безопасности и эффективности идентичны таковым с тиомерсалом.

Полученные при изучении экспериментальных серий данные легли в основу комплектов документов для внесения изменений в регистрационные досье на препараты «Анатоксин дифтерийно-столбнячный очищенный адсорбированный с уменьшенным содержанием антигенов жидкий (АДС-М-анатоксин)», «Анатоксин дифтерийный очищенный адсорбированный с уменьшенным содержанием антигенов жидкий (АД-М-анатоксин)», «Анатоксин столбнячный очищенный адсорбированный жидкий (АС-анатоксин)».

**Библиографический список**

1. Сопоставимость биотехнологических продуктов, полученных до и после внесения изменений в процесс производства. Общие принципы планирования исследований: методические рекомендации. М.: ФГБУ «ГИСК им. Л. А. Тарасевича» Минздравсоцразвития России 2011; 28.
2. *Geier M.R., Geier D.A.* Neurodevelopmental Disorders Following Thimerosal-Containing Vaccines. *Experimental Biology & Medicine* 2003; 228: 660–664.
3. *Geier M.R., Geier D.A.* Thimerosal in childhood vaccines, neurodevelopment disorders, and heart disease in the United States. *Journal of American Physicians & Surgeons* 2003; 8 (1): 6–11.
4. Guidelines on regulatory expectations related to the elimination, reduction or replacement of thimerosal in vaccines. WHO. TRS №926; 2004; 4: 95–102.
5. Joint statement of the American Academy of Pediatrics (AAP) and the United States Public Health Service (USPHS). *Pediatrics* 1999; 104 (3 Pt 1): 568–569.
6. *Wantke F., Hemmer W., Jarisch R., Gotz M.* Patch test reactions in children, adults, and elderly. *Contact Dermatitis* 1996; 34: 316–319.

Материал поступил в редакцию 15.12.2013