

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>

Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев

Медкова А.Ю.¹, Лиджиева А.А.¹, Сёмин Е.Г.¹, Синяшина Л.Н.¹, Сюдюкова Р.А.¹, Снегирёва Н.А.^{1,2}, Чернышова И.Н.^{1,2}, Гаврилова М.В.^{1,2}, Бушкова К.К.², Колобухина Л.В.¹, Кружкова И.С.¹, Меркулова Л.Н.¹, Русанова М.Г.³, Дьяков И.Н.^{1,2}✉, Каратаев Г.И.¹

¹Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

²Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;

³Инфекционная клиническая больница № 1 ДЗМ, Москва, Россия

Аннотация

Введение. Значительный рост заболеваемости коклюшем в мире, в том числе среди подростков и взрослых, распространение стёртых форм заболевания, бессимптомное носительство бактерий *Bordetella pertussis* и обусловленная этим потребность в массовой ревакцинации разных возрастных групп населения обосновывают необходимость разработки новых противокклюшных вакцин. В НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи разработана живая коклюшная вакцина интраназального применения для профилактики коклюша (ГамЖВК). Вакцина ГамЖВК прошла доклинические исследования, доказавшие её безопасность и эффективность в экспериментах на мелких лабораторных животных и нечеловекообразных обезьянах. Показана её безопасность в клинических исследованиях на здоровых добровольцах.

Цель исследования — оценка иммуногенности разных доз препарата ГамЖВК при первом применении у здоровых добровольцев.

Материалы и методы. Исследование проводилось как рандомизированное плацебо-контролируемое, слепое, с последовательным включением добровольцев и эскалацией дозы. Идентификатор исследования в базе clinicaltrials.gov: NCT03137927 (A Phase I Clinical Study of a GamLPV, a Live Intranasal *Bordetella Pertussis* Vaccine). Определены параметры гуморального и клеточного иммунного ответа в динамике: уровни специфических IgM-, IgG- и IgA-антител в сыворотке крови добровольцев и количество цитокинов интерлейкина-17, фактора некроза опухоли- α , интерферона- γ , продуцируемых после специфической индукции *in vitro* мононуклеарами периферической крови вакцинированных добровольцев. Оценена динамика персистенции аттенуированных бактерий в носоглотке вакцинированных добровольцев.

Результаты. Интраназальная вакцинация добровольцев препаратом ГамЖВК приводит к формированию специфического гуморального (IgG и IgA) и клеточного иммунного ответа. Показан дозозависимый характер продукции иммуноглобулинов и цитокинов. Аттенуированные бактерии длительно персистируют в носо/ротоглотке вакцинированных добровольцев.

Обсуждение. Хорошая переносимость всех тестируемых доз препарата обосновывает выбор для дальнейшего исследования дозы вакцины, равной 4×10^9 КОЕ. На следующем этапе будут изучены безопасность и иммуногенность двукратной вакцинации добровольцев.

Ключевые слова: живая аттенуированная вакцина, коклюш, *Bordetella pertussis*, интраназальная вакцинация, гуморальный ответ, клеточный ответ, мукозальный ответ, иммуногенность

Этическое утверждение. Исследование проводилось при добровольном информированном согласии пациентов на основании разрешения Министерства здравоохранения РФ от 28.12.2016 № 895.

Благодарность. Работа выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Медкова А.Ю., Лиджиева А.А., Сёмин Е.Г., Синяшина Л.Н., Сюдюкова Р.А., Снегирёва Н.А., Чернышова И.Н., Гаврилова М.В., Бушкова К.К., Колобухина Л.В., Кружкова И.С., Меркулова Л.Н., Русанова М.Г., Дьяков И.Н., Каратаев Г.И. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):706–720.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>

Immunogenicity of the drug "Live intranasal vaccine for the prevention of pertussis" (GamLPV) with a single use in healthy volunteers

Alisa Yu. Medkova¹, Alevtina A. Lidzhiyeva¹, Evgeniy G. Semin¹, Lyudmila N. Sinyashina¹, Rezida A. Syundyukova¹, Nadezhda A. Snegireva^{1,2}, Irina N. Chernyshova^{1,2}, Marina V. Gavrilova^{1,2}, Kristina K. Bushkova², Lyudmila V. Kolobukhina¹, Irina S. Kruzhkova¹, Liliya N. Merkulova¹, Marina G. Rusanova³, Ilya N. Dyakov^{1,2}✉, G.I. Karatayev¹

¹N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia;

²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccine and Sera, Moscow, Russia;

³Infectious Clinical Hospital No. 1 of the Moscow Department of Health, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. A significant increase in the incidence of pertussis in the world, including among adolescents and adults, the prevalence of mild forms of the disease and asymptomatic carrier of bacteria *B. pertussis*, and the resulting need for mass revaccination of different age groups determine the demand for new vaccines against *B. pertussis*. In N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, a live intranasal pertussis vaccine for the prevention of pertussis (GamLPV) has been developed. The GamLPV vaccine underwent preclinical studies that proved its safety and effectiveness in experiments on small laboratory animals and non-human monkeys. Safety of vaccine is shown in clinical studies on healthy volunteers.

The **aim** of the study is to assess the immunogenicity of different doses of the drug GamLPV when first used in healthy volunteers.

Materials and methods. The study was conducted as randomized placebo-controlled, blind trial with consistent volunteer inclusion and dose escalation. Study ID in clinicaltrials.gov database: NCT03137927 (A Phase I Clinical Study of a GamLPV, a Live Intranasal *Bordetella Pertussis* Vaccine). The following parameters of humoral and cellular immune responses were assessed in dynamics: levels of specific IgM, IgG and IgA antibodies in blood serum of volunteers and the number of cytokines interleukin-17, tumor necrosis factor- α , interferon- γ produced after specific induction *in vitro* of blood mononuclears of vaccinated volunteers. Dynamics of attenuated bacteria persistence in nasopharynx of vaccinated volunteers was evaluated.

Results. Intranasal vaccination of volunteers with the drug Gam LPV resulted in the formation of a specific humoral (IgG and IgA) and cellular immune response. The dose-dependent nature of immunoglobulin and cytokine production was shown. Attenuated bacteria persisted for a long time in the nose/oropharynx of vaccinated volunteers.

Discussion. Good tolerability of all tested doses of the drug justifies the choice for further investigation of a vaccine dose equal to 4×10^9 CFU. At the next stage, the safety and immunogenicity of two-time vaccination of volunteers will be studied.

Keywords: *live attenuated vaccine, pertussis, Bordetella pertussis, intranasal vaccination, humoral response, cellular response, mucosal response, immunogenicity*

Ethics approval. The study was carried out with the voluntary informed consent of patients on the basis of the permission of the Ministry of Health of the Russian Federation dated December 28, 2016 No. 895.

Acknowledgement. The study was carried out using the equipment of the Collective Usage Center of I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccine and Sera.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Medkova A.Yu., Lidzhiyeva A.A., Semin E.G., Sinyashina L.N., Syundyukova R.A., Snegireva N.A., Chernyshova I.N., Gavrilova M.V., Bushkova K.K., Kolobukhina L.V., Kruzhkova I.S., Merkulova L.N., Rusanova M.G., Dyakov I.N., Karatayev G.I. 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 = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(6):706–720.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>

Введение

Несмотря на проводимую в разных странах с начала 1950-х гг. массовую противокклюшную вакцинацию, элиминации возбудителя среди населения не происходит. По некоторым расчётам,

в 1990-е — начале 2000-х гг. на фоне гиподиагностики коклюша в мире регистрировалось более 48,5 млн случаев заболевания разной степени тяжести, из которых около 300 тыс. заканчивались летальным исходом [1]. В 2008 г. из 16 млн забо-

левших коклюшем 195 тыс. человек умерли [1]. В последние годы отмечается значительный рост числа лабораторно подтверждённых случаев коклюша среди подростков и взрослых [1–3], распространение стёртых форм заболевания, выявлены бессимптомные носительства бактерий *Bordetella pertussis* [2, 4, 5]. В США с охватом детей прививками, близким к 95%, с начала 2000-х гг. отмечен значительный рост регистрации коклюша, приближающийся к довакциному периоду [6, 7]. Растёт заболеваемость в странах Европы, Австралии, Азии [2, 9]. Отмечен рост числа регистрируемых случаев коклюша в Санкт-Петербурге и Москве на фоне сохранения уровня заболеваемости в России [10, 11].

Для профилактики коклюша в настоящее время в мире используют препараты АКДС-вакцины, содержащей корпускулярный коклюшный компонент (ККВ) или бесклеточный коклюшный компонент (БКВ) в сочетании с инактивированными дифтерийным и столбнячным токсинами. Иногда ККВ или БКВ используют как моновакцины. Несмотря на высокую эффективность АКДС, содержащей ККВ, практика её использования выявила побочные эффекты, для устранения которых был предложен препарат БКВ, состоящий из нескольких очищенных антигенов коклюшного микроба. Считается, что БКВ менее реактогенна, но последние исследования показали, что она не обеспечивает антибактериальный иммунитет [12], что приводит к росту числа стёртых форм заболевания и формированию бактерионосительства.

Другим важным недостатком современных коклюшных вакцин является невысокая длительность сформированного иммунитета. При изучении эффективности противокклюшных вакцин различного типа выявлено, что длительность поствакцинального иммунитета не превышает 5–7 лет. После перенесённого заболевания напряжённый иммунитет сохраняется до 15 лет [13].

Как правило, современные коклюшные вакцины вводятся детям старше 2–3 мес не менее 3 раз. Таким образом, полный цикл вакцинации завершается не раньше чем к 6-месячному возрасту ребёнка, а в Германии и Швеции — к 11–13 мес, что сохраняет высокий риск в первые, самые опасные для заболевания коклюшем месяцы его жизни [9].

Рост заболеваемости коклюшем, в том числе среди старших детей и взрослого населения, привёл к пониманию необходимости ревакцинации подростков и взрослых. Рассматривается необходимость вакцинации матерей и формирования «семейного иммунитета» [2–4, 9, 14]. Для этих целей в настоящее время рекомендована только БКВ, которая, как упомянуто выше, не обеспечивает защиту детей и взрослых от заражения и распространения инфекции и, следовательно, малоэффективна для ревакцинации.

В НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи на базе бактерий *B. pertussis* 475, входящих в состав производимой в России вакцины АКДС, разработана живая коклюшная вакцина интраназального применения для профилактики коклюша (ГамЖВК). Вакцина прошла доклинические исследования, доказавшие её безопасность и эффективность в экспериментах на мелких лабораторных животных и нечеловекообразных обезьянах [15–18]. Аналогичная вакцина французских исследователей прошла I фазу клинических исследований [19–21].

ГамЖВК на первом этапе предназначена для ревакцинации подростков, взрослых и формирования семейного иммунитета. После завершения полного цикла клинических исследований ГамЖВК будет использована для ранней вакцинации младенцев. Целью клинического исследования I фазы была оценка профиля безопасности, переносимости и эффективности разных доз препарата ГамЖВК при первом применении у здоровых добровольцев. Результаты оценки безопасности опубликованы в статье А.Ю. Медковой и соавт. [22].

Целью настоящего исследования является оценка иммуногенности разных доз препарата ГамЖВК при первом применении у здоровых добровольцев. Идентификатор исследования в базе clinicaltrials.gov: NCT03137927¹.

Материалы и методы

Дизайн исследования

Исследование проводилось как рандомизированное плацебо-контролируемое, слепое, с последовательным включением добровольцев и эскалацией дозы и выполнялось на основании разрешения Министрства здравоохранения № 895 от 28.12.2016. Все добровольцы, участвовавшие в исследовании, подписали форму добровольного информированного согласия.

Ниже приведены критерии включения и невключения, значимые для оценки иммуногенности используемой вакцины и бактериальной нагрузки в носоглоточных аспиратах. Полный перечень критериев включения, невключения, а также критериев досрочного исключения добровольцев из исследования представлен в дополнительных материалах на сайте журнала².

Критерии включения:

- мужчины и женщины в возрасте 18–40 лет с верифицированным диагнозом «здоров»;
- отсутствие специфических антител к возбудителю коклюша, подтверждённое отрицательным результатом ИФА на специфические IgM и IgG к антигенам *B. pertussis* (см. ниже);

¹ URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03137927?term=vaccine&cond=pertussis&cntry=RU&draw=2&rank=2>

² URL: <https://microbiol.elpub.ru>

- отсутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных мазках, подтверждённое методом ПЦР.

Критерии не включения:

- наличие коклюша в анамнезе;
- перенесённая вакцинация против коклюша в течение последних 10 лет, а также любая вакцинация в течение последнего года;
- любое заболевание, которое, по мнению исследователя, может повлиять на результаты исследования или привести к ухудшению состояния здоровья в ходе исследования;
- зарегистрированные сильные поствакцинальные осложнения в анамнезе;
- курсовой приём лекарственных препаратов с профилактической или лечебной целью в течение 1 мес до скрининга;
- участие в других клинических исследованиях или приём исследуемых препаратов в течение 3 мес до скрининга.

Обследование добровольцев и рандомизация

Здоровые добровольцы прошли процедуры скрининга, включавшие физикальный осмотр, оценку жизненно важных показателей, лабораторные исследования, ЭКГ, 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 включения добровольцев в исследование.

В исследовании участвовали 36 здоровых добровольцев, рандомизированных в 3 группы по 12 человек, различающиеся вводимой дозой исследуемого препарата. В пределах каждой группы добровольцы были рандомизированы в соотношении 3 : 1 (рандомизационный номер присваивали методом генерации случайных чисел с использованием статистической программы «SPSS Statistics v.19.0») по введению исследуемого препарата или плацебо соответственно. Таким образом, в каждой группе 9 добровольцев получали вакцинный препарат и 3 добровольца — плацебо.

Исследуемый препарат, дозы и способ введения

ГамЖВК на основе аттенуированных бактерий *B. pertussis* 4MKS, представлена в виде лиофилизата для приготовления суспензии для интраназального введения и произведена филиалом «Медгамал» НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Серии вакцины, использованные в клиническом исследовании, прошли все необходимые этапы контроля.

Препарат вводили с эскалацией дозы по следующей схеме: $2,5 \times 10^8$ КОЕ (доза 1), 10^9 КОЕ (доза 2) и 4×10^9 (доза 3).

В качестве плацебо применяли стерильный лиофилизат стабилизатора, растворённый в 0,9% NaCl для инъекций.

Количественное определение ДНК *B. pertussis* в заднеглоточных аспиратах методом ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ)

ДНК бактерий выделяли из смывов с заднеглоточных зондов (аспиратов). Образцы после центрифугирования обрабатывали раствором гуанидина тиоцианата с последующей сорбцией ДНК на магнитном сорбенте фирмы «Promega» [23, 24]. Для определения количества геном-эквивалентов ДНК *B. pertussis* использована разработанная и валидированная нами тест-система ПЦР РВ [25].

Прочие материалы и методы, использованные при обследовании добровольцев, описаны в дополнительных материалах к статье на сайте журнала³.

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

Образцы крови отбирали в вакуумные пробирки с активатором свёртывания крови («Vacuette»). Сыворотку крови отбирали после центрифугирования проб в течение 20 мин при 300g для уплотнения сгустка. Уровень специфических антител к возбудителю коклюша *B. pertussis* определяли с помощью ИФА в соответствии с инструкцией производителя тест-систем «RIDASCREEN® Bordetella IgG» «RIDASCREEN® Bordetella IgM» и «RIDASCREEN® Bordetella IgA» («R-Biopharm»). Доброволец считался положительным при уровне антител IgG > 17 ЕД/мл для IgM > 18 ЕД/мл для IgG (согласно инструкции к применению тест-систем).

Оценка клеточного иммунного ответа на введение вакцины

Клеточный иммунный ответ оценивали по индукции синтеза цитокинов, характерных для Th1- (ИФН- γ) и Th17-клеток (ИЛ-17) в мононуклеарах периферической крови. Определение проводили методом ИФА, выявляя количество цитокинов в надосадочной жидкости при культивировании мононуклеаров из цельной гепаринизированной периферической крови добровольцев с убитыми нагреванием вирулентными *B. pertussis*, до введения препаратов, через 8 ± 2 , 15 ± 2 , 29 ± 2 , 57 ± 2 сут после интраназальной вакцинации добровольцев. Выделенные клетки культивировали *in vitro*.

Получение мононуклеаров периферической крови

Для получения мононуклеаров периферической крови 7,0–7,5 мл цельной крови наслаивали на

³ URL: <https://microbiol.elpub.ru>

среду для сепарации лимфоцитов на основе фикола с плотностью 1,077 г/мл («Cargicorn», «Sigma») и центрифугировали при 1200g в течение 25 мин. Мононуклеары собирали и трёхкратно отмывали DPBS («Пан-ЭКО») от среды для сепарации лимфоцитов, центрифугируя при 400g в течение 10 мин. Полученные клетки взвешивали в полной среде RPMI-1640 («Gibco», «Invitrogen»), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки и все необходимые добавки. Клетки подсчитывали под микроскопом в камере Горяева.

Культивирование клеток in vitro для оценки уровня синтезируемых цитокинов в супернатанте

Мононуклеары периферической крови инкубировали в лунках плоскодонных культуральных 96-луночных планшетов («Thermo») по 10^6 клеток в 200 мкл полной среды RPMI-1640 («Gibco», «Invitrogen»), содержащей 10% эмбриональной телячьей сыворотки и все необходимые добавки, в течение 24 ч с добавлением вирулентных бактерий *B. pertussis*, инактивированных нагреванием в течение 10 мин при 65°C (индуцированная продукция цитокинов). Спонтанную продукцию интерферона- γ (ИФН- γ), интерлейкина-17 (ИЛ-17) и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) оценивали без дополнительной стимуляции. Для специфической индукции ИФН- γ , ИЛ-17 и ФНО- α в лунки вносили убитые нагреванием вирулентные бактерии *B. pertussis* до конечного соотношения 10^8 бактерий на 10^6 клеток. Клетки инкубировали в течение 24 ч в CO₂-инкубаторе.

Анализ содержания цитокинов в культуральной жидкости

Количество цитокинов ИЛ-17, ФНО- α , ИФН- γ в супернатантах после 24-часового культивирования мононуклеаров периферической крови устанавливали с использованием тест-систем ИФА для определения уровней цитокинов человека («Цитокин») в соответствии с инструкцией производителя. Оптическую плотность измеряли при двойной длине волны 450/630 нм. Уровень цитокинов, индуцируемых специфичным антигеном, рассчитывали как разницу между уровнем цитокинов, продуцируемых *in vitro* спонтанно и при добавлении специфического «активатора».

Чтобы исключить влияние исходного иммунного статуса, из полученных уровней индуцированных цитокинов вычитали значения, выявленные у добровольцев на 0-й день, т.е. до вакцинации или введения плацебо. При этом учитывался только объективный ответ, т.е. возрастание уровня цитокинов. Если уровень индуцируемых цитокинов после вакцинации был ниже, чем на 0-е сутки (разница была отрицательной), считали, что ответ отсутствует

и возрастание равно «0». Также были определены средние значения уровней индуцируемых цитокинов в группе добровольцев, получивших плацебо.

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных по иммуногенности ГамЖВК проводили с помощью программного обеспечения «GraphPad Prism v.6.0». Нормальность распределения оценивали с помощью KS-теста. Если распределение значений не соответствовало нормальному, для статистической обработки и оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. При оценке гуморального ответа определяли достоверность различий с нулевой точкой (до вакцинации) среди добровольцев, получивших плацебо, и для каждой дозы вакцины. При оценке клеточного иммунного ответа оценивали достоверность различий кратности возрастания уровня индуцированных цитокинов относительно среднего значения по группе плацебо. Данные представлены в таблицах и на рисунках в виде медианы и межквартильного интервала.

Результаты

В результате первичного скрининга были отобраны 50 серонегативных добровольцев, содержащих специфичные антитела к антигенам *B. pertussis*: IgM-изотипа ≤ 17 ЕД/мл, IgG-изотипа ≤ 18 ЕД/мл. После завершения скрининга до активной фазы исследования с вакцинацией были допущены 36 серонегативных добровольцев, рандомизированных на 3 группы.

Забор крови и ротоглоточных аспиратов осуществляли непосредственно перед введением препаратов, на 8, 15, 29 и 57-е сутки после введения. Ротоглоточные аспираты отбирали также на 1-е сутки после вакцинации.

Гуморальный иммунный ответ

Определение уровня специфических IgM в сыворотке вакцинированных добровольцев не выявило достоверных отличий от исходных их значений в группе плацебо.

Результаты оценки уровня специфических IgG- и IgA-антител в динамике в группе плацебо и среди добровольцев, получивших вакцину, приведены в табл. 1, 2 и на рис. 1, 2. Гистограммы с данными по отдельным пациентам приведены в дополнительных материалах к статье на сайте журнала⁴.

Серопозитивными по IgG считают сыворотки с содержанием антител IgG > 18 ЕД/мл (инструкция «RIDASCREEN®»). При введении дозы 1 из 9 вакцинированных добровольцев на 29-е сутки достигли серопозитивного уровня 5 (56%) человек.

⁴ URL: <https://microbiol.elpub.ru>

Таблица 1. Гуморальный IgG-ответ в группе добровольцев, получивших ГамЖВК
Table 1. Humoral IgG response in the group of vaccinated volunteers

Доза Dose	Показатель Indicator	Уровень антител в различные сроки, сут Antibody level at different times, days				
		0	8	15	29	57
Плацебо Placebo	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	7,00 (4,50; 9,50)	8,50 (4,50; 11,50)	10,00 (5,50; 11,00)	10,00 (7,25; 11,50)	10,00 (7,25; 11,50)
	<i>p</i>	–	0,5949	0,2858	0,2154	0,1384
	Доза 1 Dose 1	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	10,00 (5,50; 10,50)	10,00 (6,50; 17,00)	15,00 (8,75; 26,50)	18,00 (12,00; 30,50)
	<i>p</i>	–	0,3766	0,0323	0,0007	0,0003
Доза 2 Dose 2	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	8,00 (6,00; 10,50)	9,00 (6,50; 14,50)	11,00 (10,00; 20,00)	18,00 (14,50; 24,50)	15,00 (14,00; 34,50)
	<i>p</i> *	–	0,3259	0,0192	<0,0001	<0,0001
	Доза 3 Dose 3	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	8,00 (4,25; 10,00)	8,00 (4,75; 11,50)	15,00 (11,25; 23,00)	17,00 (11,50; 27,50)
	<i>p</i>	–	0,7797	0,0101	0,0031	<0,0001

Примечание. Здесь и в табл. 2: *p* — достоверность различий с 0-ми сутками.

Note. Here and in Table 2: *p* — the reliability of the differences when compared to day 0.

Таблица 2. Гуморальный IgA-ответ в группе добровольцев, получивших ГамЖВК
Table 2. Humoral IgA response in the group of vaccinated volunteers

Доза Dose	Показатель Indicator	Уровень антител в различные сроки, сут Antibody level at different times, days				
		0	8	15	29	57
Плацебо Placebo	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	4,50 (3,00;5,50)	4,50 (2,50;5,25)	4,00 (3,00;4,75)	5,00 (2,00;5,00)	3,00 (1,50;4,00)
	<i>p</i>	–	1,000	0,6218	0,8952	0,1114
	Доза 1 Dose 1	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	5,00 (4,50;7,75)	5,00 (4,50;9,25)	6,5 (4,75;27,00)	11,00 (7,00;50,00)
	<i>p</i>	–	0,8255	0,1159	0,0037	0,0642
Доза 2 Dose 2	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	7,00 (4,00;10,00)	11,00 (4,50;16,00)	17,00 (6,50;26,00)	18,00 (8,00;35,00)	20,00 (9,50;42,50)
	<i>p</i> *	–	0,2968	0,0582	0,0144	0,0093
	Доза 3 Dose 3	Медиана (квартили), ЕД/мл Median (Q ₁ ; Q ₃), U/ml	4,00 (3,50;6,50)	4,50 (4,00;9,00)	12,00 (7,50;31,00)	15,00 (8,00;37,50)
	<i>p</i>	–	0,4688	0,0005	0,0020	0,0006

Ещё 4 добровольца остались серонегативными (< 14 ЕД/мл) и 1 попал в зону неопределённого серологического статуса по IgG (14–18 ЕД/мл). В ответ на вакцинацию дозой 2 исследуемой вакцины на 29-е сутки серопозитивными по IgG-антителам были 5 из 9 вакцинированных (56%). При введении добровольцам максимальной дозы 3 вакцины на 29-е сутки серопозитивными по IgG-антителам были 6 из 9 вакцинированных (67%) и на 59-е сутки — 8 из 9 вакцинированных (89%). Один доброволец на 59-е сутки имел неопределённый серологический статус.

Из приведённых данных видно, что максимального уровня IgG достигает к 29–57-м суткам. Медиана уровня IgG возрастает на дозе 1 в 1,8 раза

на 29-е сутки и в 2 раза — на 57-е, на дозе 2 — в 2,25 и 1,88 раза соответственно, на дозе 3 — в 2,13 и 3,13 раза соответственно.

При оценке уровня специфического IgA серонегативными считаются лица с уровнем IgA < 19 ЕД/мл, неопределённый серологический статус устанавливается при выявлении 19–26 ЕД/мл IgA-антител, а серопозитивным статус признают при уровне IgA-антител в сыворотке крови > 26 ЕД/мл (инструкции для ELISA «RIDASCREEN® Bordetella IgA»).

Как видно из представленных в табл. 2 и на рис. 2 данных, число добровольцев, ответивших на введение вакцины достижением серопозитивного статуса, меньше, чем для IgG. Для дозы 1 — 4 (33%) из 9 вакцинированных, для доз 2 и 3 — только

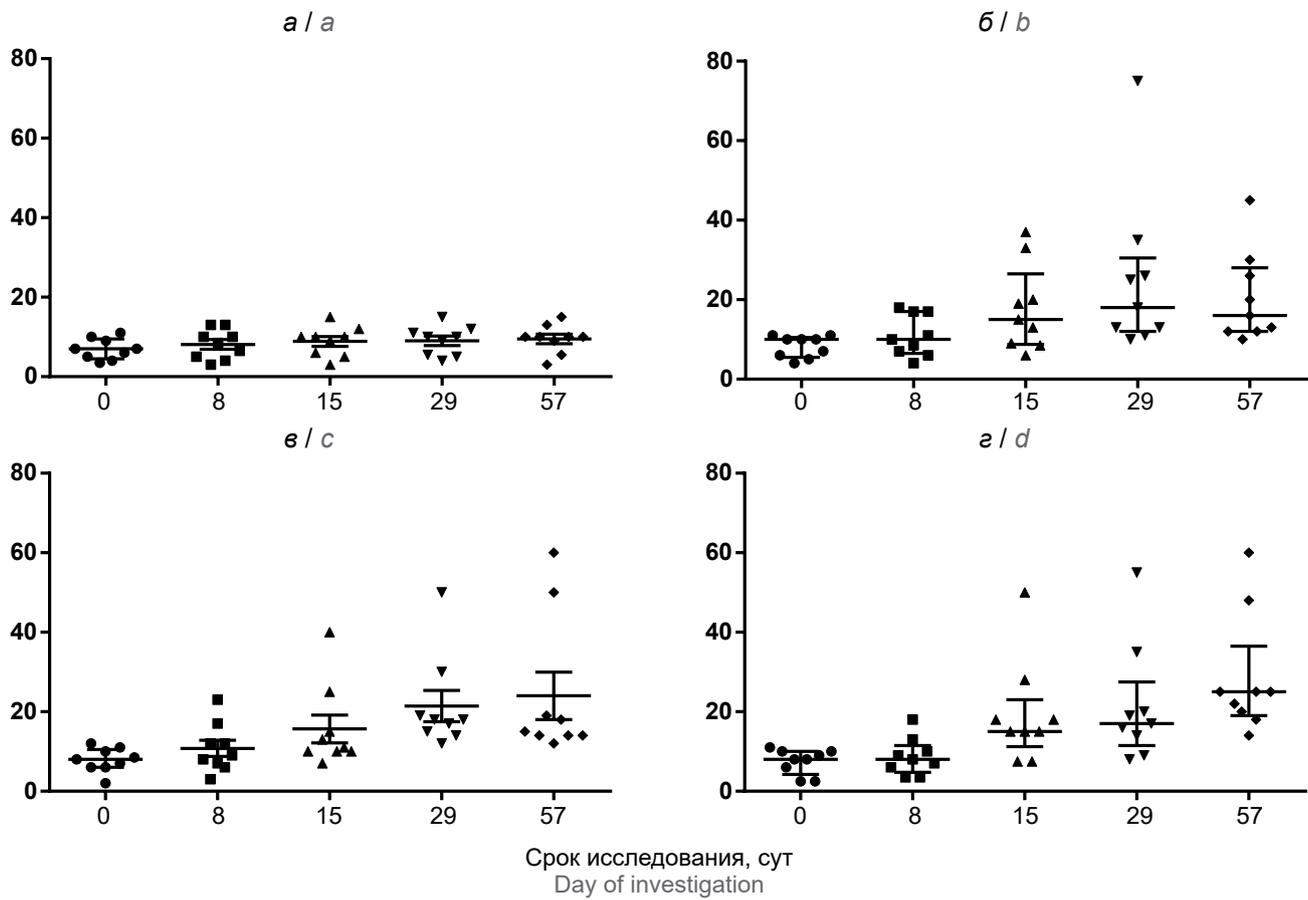


Рис. 1. Уровни IgG (ЕД/мл) в сыворотке крови добровольцев.

а — получившие плацебо; б — получившие ГамЖВК в дозе 1; в — в дозе 2; г — в дозе 3.

Fig. 1. Serum IgG levels (U/ml) of volunteers.

а — placebo group; б — vaccinated with GamLPV at the first dose ($2,5 \times 10^9$);

с — vaccinated with GamLPV at the second dose (10^9); д — vaccinated with GamLPV at maximal dose (4×10^9).

3 (22%) из 9 вакцинированных. В то же время из 7 выявленных случаев IgA-ответа 6 совпали с выявленным IgG-ответом. Наиболее сильный IgA-ответ (100 ЕД/мл и более) выявлен у двух добровольцев, у которых также был отмечен наиболее сильный IgG-ответ (рис. 1, 2). Этот результат может свидетельствовать в пользу корреляции измеренных показателей и требует дальнейшего изучения. Сывороточные IgA-антитела в большинстве случаев (6 из 7) достигали серопозитивного уровня на 15-е сутки (доза 2 — $p = 0,0582$, доза 3 — $p = 0,0005$). Ни у одного из добровольцев, получивших плацебо, специфичные IgA-антитела не были выявлены.

Клеточный иммунный ответ

У добровольцев, однократно интраназально вакцинированных ГамЖВК, была определена продукция индуцированных цитокинов ИФН- γ (Th1), ИЛ-17 (Th17) и ФНО- α в мононуклеарах периферической крови. Поскольку для разных добровольцев наблюдался большой разброс измеренных абсолютных значений, сильно затрудняющий обработку результатов, было принято решение представить

результаты в относительных значениях. Относительное возрастание уровней исследуемых цитокинов рассчитывали как отношение индуцированного уровня цитокина на каждой точке у вакцинированного добровольца к среднему значению в группе плацебо. Результаты измерения содержания цитокинов для каждой дозы вакцины приведены на рис. 3–5.

Интенсивность цитокинового ответа среди вакцинированных добровольцев значительно отличалась. Наибольшие уровни индуцируемого ИФН- γ выявлены в первые 2 нед и на 60-е сутки, что может свидетельствовать об индукции эффекторных Th1-клеток на начальных стадиях иммунного ответа и Th1-клеток памяти в отдаленные сроки после вакцинации. Сопоставление результатов вакцинации добровольцев наименьшей и наибольшей дозами позволяет констатировать наличие дозовой зависимости интенсивности цитокинового ответа — наибольшие уровни индукции цитокинов наблюдались у добровольцев, получивших максимальную дозу вакцины.

Кратность возрастания уровня индуцируемого ИФН- γ в сравнении с исходными значениями в группе плацебо варьировала в диапазоне 0,22–3,87.

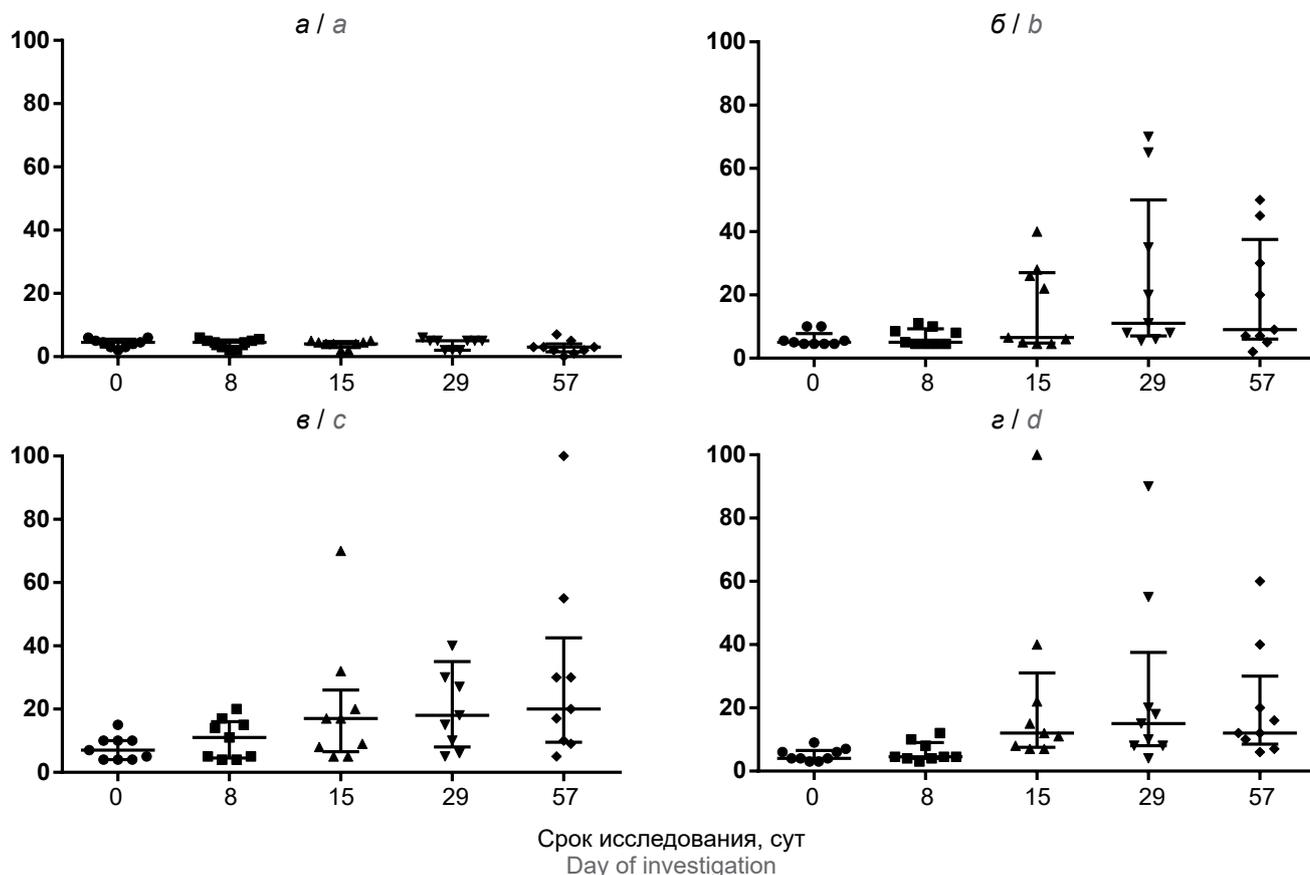


Рис. 2. Уровни IgA в сыворотке крови добровольцев.
 а — получившие плацебо; б — получившие ГамЖВК в дозе 1; в — в дозе 2; г — в дозе 3.

Fig. 2. Serum IgA levels of volunteers.
 a — placebo group; b — vaccinated with GamLPV at the first dose ($2,5 \times 10^8$);
 c — vaccinated with GamLPV at the second dose (10^9); d — vaccinated with GamLPV at maximal dose (4×10^9).

В связи с этим в качестве критерия ответа было принято 4-кратное возрастание уровня индуцируемого ИФН- γ . Среди добровольцев, получивших дозу 1, более чем 4-кратное возрастание выявлено у 4 (44,4%) из 9 добровольцев; при вакцинации дозой 2 — у 1 (11,1%) из 9; при вакцинации дозой 3 — у 5 (55,5%) из 9. Таким образом, наибольший уровень ответа в отношении ИФН- γ был выявлен при применении наиболее высокой (доза 3) дозы вакцинного препарата.

Не понятно практически полное отсутствие превышения уровней индуцируемого ИФН- γ относительно плацебо среди добровольцев, получивших дозу 2. Для этой группы характерен и более слабый специфический антительный ответ на вакцинацию. Причины выявленных отклонений требуют дальнейшего изучения.

При оценке уровней индуцируемого ИЛ-17 наблюдалась более регулярная картина, в том числе у добровольцев, получивших дозу 2 (рис. 4).

Среди добровольцев, получивших плацебо, кратность превышения исходного уровня цитокина варьировала в диапазоне 0,00–4,49, в связи с чем

в качестве критерия ответа было выбрано 5-кратное превышение среднего уровня индуцируемого ИЛ-17 в сравнении с исходными значениями. Среди вакцинированных добровольцев в большинстве случаев наблюдались чёткое возрастание уровней ИЛ-17 и выраженная дозозависимость. Так, среди 9 добровольцев, получивших дозу 1 вакцины, у 4 (44%) было выявлено возрастание уровня индуцируемого ИЛ-17, как минимум 5-кратно превышающее среднее значение для группы плацебо. Среди 9 добровольцев, получивших дозу 2, у 8 (89%) выявлено минимум 5-кратное превышение уровня индуцируемого ИЛ-17 в сравнении с плацебо. При этом только у 1 добровольца наблюдалось 25-кратное возрастание уровня индуцируемого ИЛ-17. При вакцинации дозой 3 ГамЖВК число добровольцев с минимум 5-кратным возрастанием уровня ИЛ-17 несколько снизилось (до 5; 56%), но при этом практически у всех (4 из 5) выявлено минимум 30-кратное возрастание уровня индуцированного ИЛ-17. Таким образом, прослеживается выраженная дозозависимость интенсивности ответа ИЛ-17 на индукцию *B. pertussis*.

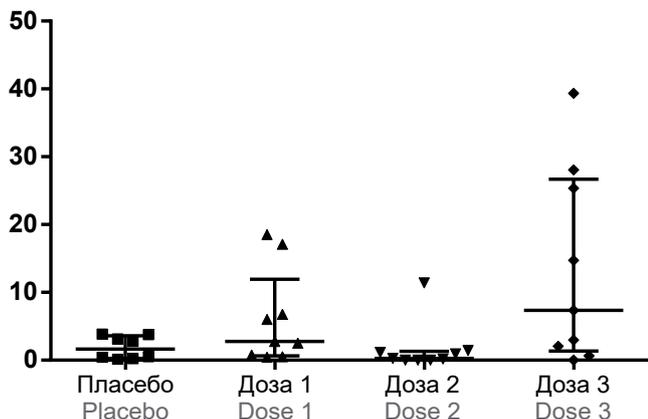


Рис. 3. Максимальные зарегистрированные за период исследования значения кратности возрастания уровня индуцируемого ИФН- γ относительно среднего значения по группе плацебо после 24-часовой индукции *B. pertussis*.

Fig. 3. Maximum multiplicity values of the increase in IFN γ inducible level against placebo group mean after 24-hour induction with *B. pertussis* recorded over the study period.

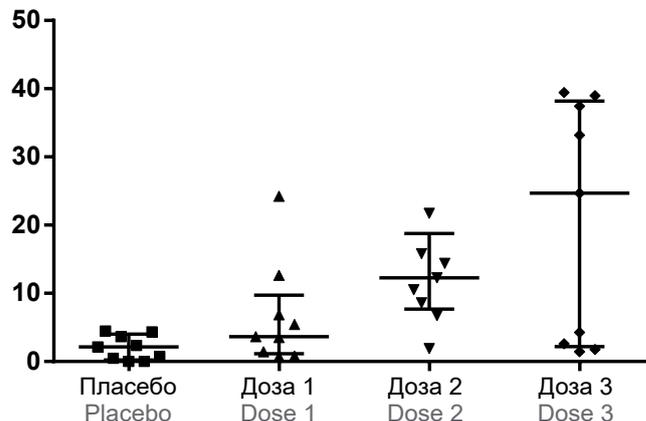


Рис. 4. Максимальные зарегистрированные за период исследования значения кратности возрастания уровня индуцируемого ИЛ-17 относительно среднего значения по группе плацебо после 24-часовой индукции *B. pertussis*.

Fig. 4. Maximum multiplicity values of the increase in IL17 inducible level against placebo group mean after 24-hour induction with *B. pertussis* recorded over the study period.

На рис. 4 приведены максимальные зарегистрированные значения уровня индуцированного ИЛ-17 в сравнении со средними значениями по плацебо. Достоверное увеличение индуцированного ИЛ-17 отмечено при использовании доз 2 и 3 ГамЖВК (в сравнении с плацебо $p = 0,0008$ и $p = 0,0238$ соответственно).

При оценке индуцируемого ФНО- α достоверные различия с исходным уровнем были выявлены только для доз 1 и 3 вакцины ($p = 0,0020$ и $p = 0,0195$ соответственно), что коррелировало с данными, полученными для ИФН- γ (рис. 5).

Разброс кратностей индукции ФНО- α в группе плацебо варьировал в диапазоне 0,00–4,68, в связи с чем в качестве ответа учитывали 5-кратное возрастание уровня индуцируемого ФНО- α . Среди 9 добровольцев, получивших дозу 1, такое возрастание отмечено у 5 (55,5%); среди вакцинированных дозой 2 — у 1 (11,1%); среди вакцинированных дозой 3 — у 2 (22,2%). Выявленное снижение индукции ФНО- α при повышении дозы вакцинного штамма *B. pertussis* требует дальнейшего изучения и проверки на большей популяции добровольцев.

Динамика размножения аттенуированных бактерий *B. pertussis* в носоглотке добровольцев

ДНК *B. pertussis* регистрировали в аспиратах добровольцев через 1 ч, 1, 8, 15, 29 и 57 сут после вакцинации добровольцев. На рис. 6 представлена характерная гистограмма распределения доли добровольцев, в ротоглоточных аспиратах которых достоверно зарегистрирована ДНК аттенуированных бактерий. Динамика элиминации бактерий из ротоглотки для дозы 1 практически не отличается

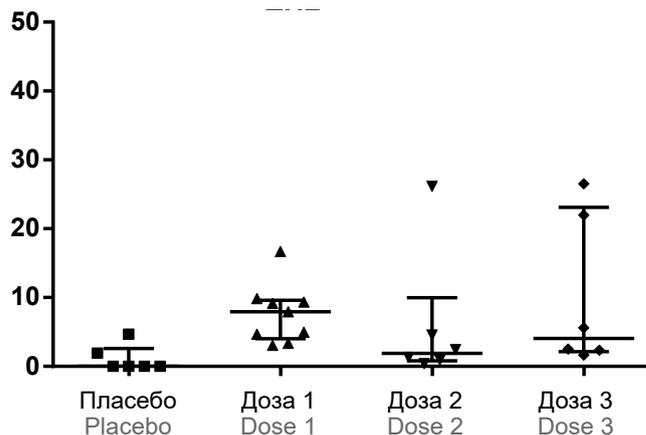


Рис. 5. Максимальные зарегистрированные за период исследования значения кратности возрастания уровня индуцируемого ФНО- α относительно среднего значения по группе плацебо после 24-часовой индукции *B. pertussis*.

Fig. 5. Maximum multiplicity values of the increase in TNF α inducible level against placebo group mean after 24-hour induction with *B. pertussis* recorded over the study period.

от представленной, тогда как при дозе 3 отмечен более резкий спад количества геном-эквивалента (ГЭ) со временем, и к 29-му дню ДНК в ротоглотке не регистрируется.

По причине малого числа добровольцев в каждой когорте и большого разброса измеренных значений числа ГЭ обсуждение динамики их изменения в каждой из групп представляется нецелесообразным.

Обсуждение

Дозозависимость иммунного ответа при вакцинации является характерной, по крайней мере до

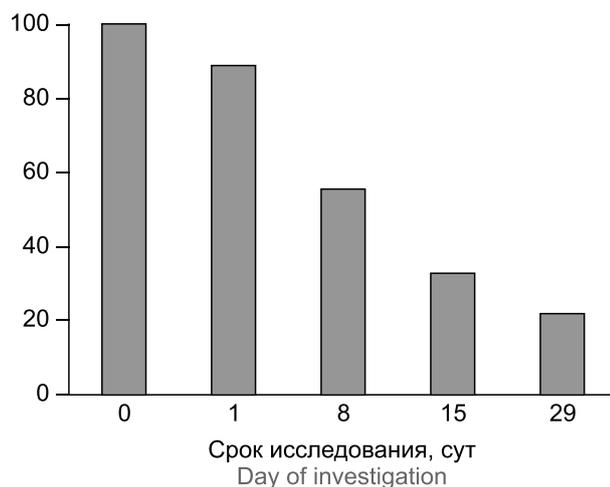


Рис. 6. Доля добровольцев, в ротоглотке которых выявлена ДНК аттенуированных бактерий, после интраназальной вакцинации ГамЖВК в дозе 10^9 КОЕ.

Fig. 6. Percentage of volunteers in whose oropharynx the DNA of attenuated bacteria was detected after intranasal vaccination with GamLPV at a dose of 10^9 CFU.

определённых значений дозы, и положена в основу выбора оптимальной дозы для применения вакцины. Зависимость эффективности живой коклюшной вакцины от дозы показана в экспериментах с иммунизацией взрослых нечеловекообразных обезьян [18, 19] и при вакцинации здоровых добровольцев [21]. В настоящем исследовании лучшие результаты были получены при введении добровольцам максимальной дозы 3 вакцины. На 29-е сутки серопозитивными по IgG-антителам были 6 (67%) из 9 вакцинированных и на 59-е сутки — 8 (89%) из 9 вакцинированных, единственный доброволец на 59-е сутки имел неопределённый серологический статус.

Следует отметить, что достоверное двукратное возрастание количества IgG отмечено у абсолютного большинства добровольцев, получивших вакцину, даже если оно в конечном итоге не достигало диагностически значимых величин. Ни у одного из добровольцев, получивших плацебо, достоверного возрастания IgG не выявлено.

Таким образом, вакцинация добровольцев любой из использованных доз ГамЖВК приводит к более чем двукратному росту IgG, специфических к коклюшному токсину и филаментозному гемагглютиниру. Полученные результаты позволяют заключить, что однократное введение вакцины ГамЖВК вызывает специфический, дозозависимый IgG-ответ у вакцинированных добровольцев.

Определение IgA-антител в сыворотке крови может быть особенно интересным, учитывая способ введения исследуемой вакцины. IgA является основным изотипом иммуноглобулинов на слизистых. Одна из ключевых его особенностей — неспособность активировать каскад комплемента даже при образовании комплекса со специфическим

антигеном. Это значительно снижает вероятность развития воспаления на слизистой оболочке и, соответственно, её повреждения. Другая важная функция IgA — блокирование на клетке микроорганизма сайтов прикрепления к слизистой, что предотвращает колонизацию слизистой и повышает эффективность элиминации возбудителя. Помимо этого, IgA (в мономерной форме) в относительно больших количествах присутствует в сыворотке крови (второй иммуноглобулин по количеству после IgG). В связи с этим представлялось весьма вероятным появление IgA-антител к *B. pertussis* в сыворотке крови добровольцев после мукозальной (интраназальной) вакцинации. При этом выявление IgA-антител в сыворотке крови может косвенно свидетельствовать о формировании мукозального IgA-иммунного ответа, однако данные о такой корреляции для *B. pertussis* в литературе отсутствуют и это предположение требует проверки.

Как было отмечено выше, из 7 выявленных случаев IgA-ответа 6 совпали с выявленным IgG-ответом. Наиболее сильный IgA-ответ (100 ЕД/мл и более) выявлен у добровольцев, у которых также был отмечен наиболее сильный ответ по IgG (см. дополнительные материалы к статье на сайте журнала⁵). Этот факт может свидетельствовать в пользу корреляции двух ключевых показателей гуморального иммунного ответа и требует дальнейшего изучения.

Другая особенность выявленного IgA-ответа на *B. pertussis* в сыворотке крови — более раннее его начало в сравнении с IgG-ответом. Так, если значимый IgG-ответ развивался не ранее 29-х суток после вакцинации, то IgA-антитела в большинстве случаев (6 из 7) достигали серопозитивного уровня уже на 15-е сутки, а на 59-е сутки наблюдалось снижение их уровня в сравнении с 29-ми сутками. Отчасти это может свидетельствовать о вовлечении в IgA-ответ клеток первой линии защиты: В-1-лимфоцитов, в норме населяющих *lamina propria* респираторного и пищеварительного трактов (а также перитонеальную и плевральную полости) и вносящих значимый вклад в иммунную защиту слизистых оболочек. В-1-клеткам не требуется прохождение длительного этапа дифференцировки для синтеза/секреции IgA, что может объяснить более раннее его появление в сыворотке крови вакцинированных добровольцев. Однако данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Как и в случае IgG, возрастание количества IgA отмечено у абсолютного большинства добровольцев, получивших вакцину, даже если у некоторых добровольцев оно в конечном итоге не достигало диагностически значимых величин.

При первичном контакте с патогеном обычно первыми образуются IgM-антитела. В нашем

⁵ URL: <https://microbiol.elpub.ru>

исследовании незначительные изменения уровня IgM-антител в сыворотке крови происходили в серонегативном диапазоне. В отличие от IgA и IgG, изменения содержания IgM-антител по сравнению с исходными значениями недостоверны. Аналогичный результат получен нами при анализе IgM-антител у обезьян, иммунизированных однократно аттенуированными бактериями *B. pertussis* [18]. Отсутствие IgM-антител после вакцинации может быть обусловлено тем, что бактерии аттенуированного штамма *B. pertussis* вызывает инфекционный процесс, при котором не происходит значительного повреждения слизистой оболочки и развития значимого воспалительного процесса, что подтверждается отсутствием клинических проявлений заболевания у вакцинированных добровольцев. Отсутствие проникновения возбудителя через повреждённую слизистую может быть причиной отсутствия значимого системного IgM-ответа. Вместо этого происходит индукция первичного IgA-ответа.

Как видно из представленных данных, у добровольцев, получавших плацебо, уровень антител достоверно не изменялся в течение всего исследования, независимо от их изотипа.

В заключение анализа следует отметить, что в сыворотке крови большинства вакцинированных добровольцев, независимо от дозы, зафиксирован рост содержания IgA и IgG, достигающий серопозитивного уровня, только в 56–89% случаев для IgG и 22–33% случаев для IgA в зависимости от дозы вакцины. Аналогичные результаты получены нами при экспериментальной инфекции и вакцинации обезьян макака резус. После первой экспериментальной инфекции вирулентными или аттенуированными бактериями число животных, в крови которых регистрировался достоверный прирост уровня IgG, составило менее 50% при достоверной регистрации бактерий в носоглотке. При этом повторная иммунизация или инфекция приводили к формированию IgG практически у всех животных [18, 26]. Количество серопозитивных добровольцев после вакцинации коррелирует и с числом серопозитивных людей после перенесённой инфекции, составляющих, по некоторым данным, менее 80% [27].

Низкие абсолютные значения IgA и IgG в ряде случаев могут быть связаны с частичным иммунодефицитом добровольцев. Полученные результаты ещё раз подчёркивают неполное понимание механизмов противокклюшного иммунитета и роли антител в его формировании и обеспечении защиты от инфекции.

Представленные результаты определения гуморального ответа на интраназальную вакцинацию ГамЖВК позволяют утверждать, что однократная вакцинация добровольцев индуцирует выработку специфических сывороточных противокклюшных

антител класса IgA и IgG. Поскольку IgA обеспечивают преимущественно защиту слизистых оболочек, возможно, выявление IgA в секретах рото- и носоглотки может быть более информативным.

Оценивая результаты определения клеточного иммунного ответа, следует отметить, что большой уровень разброса измеренных нами значений индуцированной продукции ИФН- γ и ИЛ-17 отмечался не только у вакцинированных добровольцев, но и в группе плацебо, что значительно затруднило анализ полученных результатов. Тем не менее можно утверждать, что достоверное увеличение продукции ИЛ-17, по крайней мере для двух использованных доз, свидетельствует об индукции Th17-клеточного ответа на интраназальную вакцинацию добровольцев. Этот результат находится в полном соответствии с принятым представлением о роли Th17-ответа в противокклюшном иммунитете [1, 2, 9]. Корреляции между Th17- и Th1-ответом по измеренным параметрам не установлено. Максимальные значения ИФН- γ и ИЛ-17 в большинстве случаев были зарегистрированы у разных добровольцев. Более того, больше всего добровольцев показали более чем 5-кратное превышение уровней ИЛ-17 при введении 2-й дозы вакцины, тогда как возрастание уровня ИФН- γ у этих добровольцев практически не отмечено. Этот результат может предполагать наличие дихотомии ответа на *B. pertussis* по Th1- и Th17-пути. Нужно также отметить, что не было выявлено корреляции между уровнем гуморального иммунного ответа и индукцией исследованных цитокинов.

Полученные результаты позволяют заключить, что интраназальная вакцинация добровольцев препаратом ГамЖВК приводит к формированию специфического гуморального (IgG и IgA) и клеточного иммунного ответа.

Исследования, проведённые нами на этапе доклинического изучения ЖВК, показали, что аттенуированные бактерии *B. pertussis* размножаются в организме обезьян аналогично изогенным вирулентным бактериям [15, 18]. После первой экспериментальной инфекции вирулентные и аттенуированные бактерии регистрируются методом ПЦР РВ в ротоглотке большинства макака резус в течение 2–3 мес. Французские исследователи выявляли в носоглотке павианов анубис аттенуированные бактерии *B. pertussis* BPZE1 с помощью посевов материала назофарингеальных мазков на твёрдую питательную среду вплоть до 5–7 нед [19]. В работе J.M. Warfel и соавт. в носоглотке павианов анубис регистрировали вирулентные бактерии *B. pertussis* D20 в течение 4–5 нед [28]. В исследованиях, проведённых нами совместно с сотрудниками НИИДИ Ленинград, ДНК возбудителя коклюша в носоглотке выздоравливающих больных регистрировали более 3 мес [25].

В наших экспериментах в качестве положительного принимались результаты ПЦР РВ, в которых количество копий ДНК мишени (IS481), определенное по результатам 2 измерений, составляло не менее 10, а сигнал в образцах отрицательного контроля (вода) и контроля выделения отсутствовал или не превышал 1–2 копий. Следует отметить, что чувствительность тест-системы ПЦР РВ была лучше, чем 0,05 ГЭ бактерии *B. pertussis* в 5 мкл [25, 29]. Статистическая достоверность такой чувствительности обусловлена большим числом копий последовательности мишени IS481.

Как видно из рис. 5, ДНК *B. pertussis* регистрируется через час после инфекции в образцах от всех добровольцев, получивших аттенуированные бактерии. Обычно количество ГЭ ДНК *B. pertussis* в 5 мкл образца через час после инфекции находилось в диапазоне 10^3 – 10^5 . Через 1 сут после вакцинации ДНК регистрируется у 5 (56%) из 9 добровольцев, получивших дозу 1, у 8 (89%) из 9 — дозы 2 и 3. Количество ГЭ в ротоглоточном аспирате в 100–1000 раз меньше, чем через 1 ч после инокуляции бактерий. Таким образом, через 1 сут бактерии присутствовали в носоглотке большинства вакцинированных добровольцев, хотя и в значительно меньшем количестве, чем сразу после инокуляции. В носоглотке добровольцев, получивших плацебо, ДНК *B. pertussis* не обнаружена.

Следует заметить, что время персистенции бактерий в организме человека, с нашей точки зрения, является важным фактором защитной активности ГамЖВК. Сопоставление полученных результатов с результатами 2–3-кратной экспериментальной инфекции обезьян вирулентными бактериями и их иммунизации аттенуированными бактериями позволяет предположить, что повторная вакцинация добровольцев будет сопровождаться бустерным эффектом роста титра специфических антител и ускоренной элиминацией возбудителя из носоглотки добровольцев [18–20]. Изучение параметров гуморального и клеточного иммунитета после первой и повторной вакцинации позволит сделать заключение об их роли в обеспечении защитного эффекта ГамЖВК и определит необходимость повторной вакцинации добровольцев для усиления защитной активности вакцины.

Полученные положительные результаты демонстрируют необходимость продолжения клинических исследований препарата ГамЖВК, направленных в том числе на определение схемы и методов вакцинации добровольцев. Сформулирован протокол следующего этапа клинического исследования.

Анализ иммунного ответа на вакцинацию ГамЖВК на следующем этапе исследования необходимо сосредоточить на изучении параметров гуморального ответа и на определении индуцированной продукции растворимых цитокинов в экспериментах

in vitro. Учитывая дозозависимый характер продукции иммуноглобулинов и цитокинов и хорошую переносимость всех тестированных доз препарата, для дальнейшего исследования предполагается использовать максимальную дозу, равную 4×10^9 КОЕ.

Заключение

Интраназальная однократная вакцинация добровольцев препаратом ГамЖВК приводит к формированию специфического гуморального (IgG и IgA) и клеточного иммунного ответа, характерного для коклюшной инфекции. Зависимость продукции иммуноглобулинов и цитокинов от дозы вакцины, безопасность и хорошая переносимость препарата позволили определить максимальную из исследованных доз (4×10^9 КОЕ) для дальнейших исследований. Аттенуированные бактерии длительно персистируют в носо- и ротоглотке вакцинированных добровольцев. В настоящее время проводятся исследования, направленные на определение схемы и способа введения ГамЖВК здоровым добровольцам. В рамках второго этапа клинического исследования будут изучены безопасность и иммуногенность двукратной вакцинации добровольцев.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Mattoo S., Cherry J.D. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005; 18(2): 326–82. <https://doi.org/10.1128/cmr.18.2.326-382.2005>
2. Kilgore P.E., Salim A.M., Zervos M.J., Schmitt H.J., Wood N., McIntyre P. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3): 449–85. <https://doi.org/10.1128/cmr.00083-15>
3. Wiley K.E., Zuo Y., Macartney K.K., McIntyre P.B. Sources of pertussis infection in young infants: a review of key evidence informing targeting of the cocoon strategy. *Vaccine.* 2013; 31(4): 618–25. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.052>
4. Wendelboe A.M., Njamkepo E., Bourillon A., Floret D.D., Gaudelus J., Gerber M., et al. Transmission of *Bordetella pertussis* to young infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2007; 26(4): 293–9. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000258699.64164.6d>
5. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Синяшина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Я.И., Каратаев Г.И. и др. Распространенность стертых форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. *Детские инфекции.* 2010; 9(4): 19–22.
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis epidemic — Washington, 2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2012; 61(28): 517–22.
7. Rosewell A., Spokes P.J., Gilmour R.E. NSW Annual vaccine-preventable disease report, 2011. *NSW Public Health Bull.* 2012; 23(9-10): 171–8. <https://doi.org/10.1071/NB12086>
8. Gonfiantini M.V., Carloni E., Gesualdo F., Pandolfi E., Agricola E., Rizzuto E., et al. Epidemiology of pertussis in Italy: disease trends over the last century. *Euro. Surveill.* 2014; 19(40): 20921. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.40.20921>
9. Salim A.M., Liang Y., Kilgore P.E. Protecting newborns against pertussis: treatment and prevention strategies. *Pediatr. Drugs.* 2015; 17(6): 425–41. <https://doi.org/10.1007/s40272-015-0149-x>

10. Иозефович О.В., Харит С.М., Каплина С.П., Гостев В.В., Сидоренко С.В., Калиногорская О.С. и др. Распространённость коклюша у длительно кашляющих детей 6-17 лет, привитых в раннем возрасте АКДС вакциной. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2012; 66(5): 56–9.
11. Лобзин Ю.В., Харит С.М. Проблемы вакцинопрофилактики: краткая история, современное состояние и пути решения. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2014; (6): 30–7.
12. Warfel J.M., Zimmerman L.I., Merkel T.J. 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>
13. Guiso N., Njamkepo E., Vié le Sage F., Zepp F., Meyer C.U., Abitbol V., et al. Long-term humoral and cell-mediated immunity after acellular pertussis vaccination compares favourably with whole-cell vaccines 6 years after booster vaccination in the second year of life. *Vaccine*. 2007; 25(8): 1390–7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.10.048>
14. Kandeil W., van den Ende C., Bunge E.M., Jenkins V.A., Ceregido M.A., Guignard A. A systematic review of the burden of pertussis disease in infants and the effectiveness of maternal immunization against pertussis. *Expert. Rev. Vaccines*. 2020; 19(7): 621–38. <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1791092>
15. Каратаев Г.И., Сияяшина Л.Н., Медкова А.Ю., Семин Е.Г., Шевцова З.В., Матуа А.З. и др. Инсерционная инактивация оперона вирулентности в популяции персистирующих бактерий *Bordetella pertussis*. *Генетика*. 2016; 52(4): 422–30. <https://doi.org/10.7868/S0016675816030085>
16. Сияяшина Л.Н., Семин Е.Г., Медкова А.Ю., Сюндюкова Р.А., Каратаев Г.И. Доклиническое исследование токсичности и безопасности кандидатной живой коклюшной вакцины интраназального применения. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(6): 98–108. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-98-108>
17. Сияяшина Л.Н., Семин Е.Г., Медкова А.Ю., Сюндюкова Р.А., Каратаев Г.И. Доклинические исследования защитной активности препарата кандидатной рекомбинантной живой коклюшной вакцины интраназального применения. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; (3): 60–9. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-3-60-69>
18. Медкова А.Ю., Сияяшина Л.Н., Амичба А.А., Семин Е.Г., Шевцова З.В., Матуа А.З. и др. Доклинические исследования безопасности, иммуногенности и защитной активности аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* на экспериментальной модели *Macaca mulatta*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(4): 312–23. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-3>
19. Loch C., Papin J.F., Lecher S., Debie A.S., Thalen M., Solovay K., et al. Live attenuated 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>
20. Jahnmatz M., Amu S., Ljungman M., Wehlin L., Chiodi F., Mielcarek N., et al. B-cell responses after intranasal vaccination with the novel attenuated *Bordetella pertussis* vaccine strain BPZE1 in a randomized phase I clinical trial. *Vaccine*. 2014; 32(27): 3350–6. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.048>
21. Thorstensson R., Trollfors B., Al-Tawil N., Jahnmatz M., Bergström J., Ljungman M., et al. A phase I clinical study of a live attenuated *Bordetella pertussis* vaccine — BPZE1; a single centre, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating study of BPZE1 given intranasally to healthy adult male volunteers. *PLoS One*. 2014; 9(1): e83449. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083449>
22. Медкова А.Ю., Лиджиева А.А., Семин Е.Г., Сияяшина Л.Н., Сюндюкова Р.А., Дьяков И.Н. и др. Клинические исследования безопасности и переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021; 10(1): 114–9. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119>
23. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Сияяшина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Г.И., Боковой Я.И. и др. Выявление инсерционных мутантов авирулентных BVG — мутантов *Bordetella pertussis* у больных коклюшем, острой респираторной вирусной инфекцией и практически здоровых людей. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2010; (4): 9–13.
24. Медкова А.Ю., Сияяшина Л.Н., Румянцев Ю.П., Воронина О.Л., Кунда М.С., Каратаев Г.И. Накопление авирулентных инсерционных BVG — мутантов *Bordetella pertussis* при экспериментальной инфекции лабораторных мышей. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; 28(4): 22–5.
25. Нестерова Ю.В., Медкова А.Ю., Бабаченко И.В., Семин Е.Г., Калисникова Е.Л., Сияяшина Л.Н. и др. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. *Журнал инфектологии*. 2019; 11(1): 17–24. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24>
26. Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю., Сияяшина Л.Н., Шевцова З.В., Матуа А.З., Конджария И.Г. и др. Экспериментальный коклюш у обезьян. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; (8): 4–8.
27. Лобзин Ю.В., Скрипченко Н.В., Волжанин В.М. Новое в диагностике, терапии, реабилитации и профилактике инфекционных заболеваний у детей (по итогам работы детского научно-клинического центра инфекционных болезней в 2016 г). *Журнал инфектологии*. 2017; 9(4): 5–28.
28. Warfel J.M., Beren J., Kelly V.K., Lee G., Merkel T.J. Nonhuman primate model of pertussis. *Infect. Immun*. 2012; 80(4): 1530–6. <https://doi.org/10.1128/iai.06310-11>
29. van der Zee A., Schellekens J.F., Mooi F.R. Laboratory diagnosis of pertussis. *Clin. Microbiol. Rev*. 2015; 28(4): 1005–26. <https://doi.org/10.1128/cmr.00031-15>

REFERENCES

1. Mattoo S., Cherry J.D. Molecular pathogenesis, epidemiology, and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* subspecies. *Clin. Microbiol. Rev*. 2005; 18(2): 326–82. <https://doi.org/10.1128/cmr.18.2.326-382.2005>
2. Kilgore P.E., Salim A.M., Zervos M.J., Schmitt H.J., Wood N., McIntyre P. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin. Microbiol. Rev*. 2016; 29(3): 449–85. <https://doi.org/10.1128/cmr.00083-15>
3. Wiley K.E., Zuo Y., Macartney K.K., McIntyre P.B. Sources of pertussis infection in young infants: a review of key evidence informing targeting of the cocoon strategy. *Vaccine*. 2013; 31(4): 618–25. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.11.052>
4. Wendelboe A.M., Njamkepo E., Bourillon A., Floret D.D., Gaudelus J., Gerber M., et al. Transmission of *Bordetella pertussis* to young infants. *Pediatr. Infect. Dis. J*. 2007; 26(4): 293–9. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000258699.64164.6d>
5. Медкова А.Ю., Аляпкина Ю.С., Сияяшина Л.Н., Амелина И.П., Алексеев Я.И., Каратаев Г.И., et al. The prevalence of subclinical forms of pertussis and analysis of phase states of bacteria *Bordetella pertussis*. *Detskije infektsii*. 2010; 9(4): 19–22. (in Russian)
6. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pertussis epidemic — Washington, 2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep*. 2012; 61(28): 517–22.
7. Rosewell A., Spokes P.J., Gilmour R.E. NSW Annual vaccine-preventable disease report, 2011. *NSW Public Health Bull.*

- 2012; 23(9-10): 171–8.
<https://doi.org/10.1071/NB12086>
8. Gonfiantini M.V., Carloni E., Gesualdo F., Pandolfi E., Agricola E., Rizzuto E., et al. Epidemiology of pertussis in Italy: disease trends over the last century. *Euro. Surveill.* 2014; 19(40): 20921. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.40.20921>
 9. Salim A.M., Liang Y., Kilgore P.E. Protecting newborns against pertussis: treatment and prevention strategies. *Pediatr. Drugs.* 2015; 17(6): 425–41.
<https://doi.org/10.1007/s40272-015-0149-x>
 10. Iozefovich O.V., Kharit S.M., Kaplina S.P., Gostev V.V., Sidorenko S.V., Kalinogorskaya O.S., et al. The prevalence of pertussis in long coughing children 6–17 years old, vaccinated at an early age with DTP-vaccine. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2012; 66(5): 56–9. (in Russian)
 11. Lobzin Yu.V., Kharit S.M. The problem of vaccination: a brief history, state-of-the-art, and ways of solution. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy.* 2014; (6): 30–7. (in Russian)
 12. Warfel J.M., Zimmerman L.I., Merkel T.J. 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>
 13. Guiso N., Njamkepo E., Vié le Sage F., Zepp F., Meyer C.U., Abitbol V., et al. Long-term humoral and cell-mediated immunity after acellular pertussis vaccination compares favourably with whole-cell vaccines 6 years after booster vaccination in the second year of life. *Vaccine.* 2007; 25(8): 1390–7.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.10.048>
 14. Kandeil W., van den Ende C., Bunge E.M., Jenkins V.A., Ceregido M.A., Guignard A. A systematic review of the burden of pertussis disease in infants and the effectiveness of maternal immunization against pertussis. *Expert. Rev. Vaccines.* 2020; 19(7): 621–38. <https://doi.org/10.1080/14760584.2020.1791092>
 15. Karataev G.I., Sinyashina L.N., Medkova A.Yu., Semin E.G., Shevtsova Z.V., Matua A.Z., et al. Insertional inactivation of virulence operon in population of persistent *Bordetella pertussis* bacteria. *Genetika.* 2016; 52(4): 370–7.
<https://doi.org/10.1134/S102279541603008X> (in Russian)
 16. Sinyashina L.N., Semin E.G., Medkova A.Yu., Syundyukova R.A., Karataev G.I. Pre-clinical toxicity study and safety assessment of candidate live pertussis vaccine for intranasal administration. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2018; 17(6): 98–108.
<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-98-108> (in Russian)
 17. Sinyashina L.N., Semin E.G., Medkova A.Yu., Syundyukova R.A., Karataev G.I. Pre-clinical study of protective potency of candidate recombinant live pertussis vaccine for intranasal administration. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2019; (3): 60–9.
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-3-60-69> (in Russian)
 18. Medkova A.Yu., Sinyashina L.N., Amichba A.A., Semin E.G., Shevtsova Z.V., Matua A.Z., et al. Preclinical studies of safety, immunogenicity and protective activity of attenuated *Bordetella pertussis* bacteria on the *Macaca mulatta* model. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(4): 312–23.
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-3> (in Russian)
 19. Loch C., Papin J.F., Lecher S., Debie A.S., Thalen M., Solovay K., et al. Live attenuated 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>
 20. Jahnmatz M., Amu S., Ljungman M., Wehlin L., Chiodi F., Mielcarek N., et al. B-cell responses after intranasal vaccination with the novel attenuated *Bordetella pertussis* vaccine strain BPZE1 in a randomized phase I clinical trial. *Vaccine.* 2014; 32(27): 3350–6.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.048>
 21. Thorstensson R., Trollfors B., Al-Tawil N., Jahnmatz M., Bergström J., Ljungman M., et al. A phase I clinical study of a live attenuated *Bordetella pertussis* vaccine — BPZE1; a single centre, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating study of BPZE1 given intranasally to healthy adult male volunteers. *PLoS One.* 2014; 9(1): e83449.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083449>
 22. Medkova A.Yu., Lidzheva A.A., Semin E.G., Sinyashina L.N., Syundyukova R.A., D'yakov I.N., et al. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv.* 2021; 10(1): 114–9. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119> (in Russian)
 23. Medkova A.Yu., Alyapkina Yu.S., Sinyashina L.N., Amelina I.P., Alekseev G.I., Bokovoy Ya.I., et al. Detection of avirulent insertional *Bordetella pertussis* BVG – mutants in patients with pertussis and with upper respiratory tract infection and in seemingly healthy people. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2010; (4): 167–71.
<https://doi.org/10.3103/S0891416810040051> (in Russian)
 24. Medkova A.Yu., Sinyashina L.N., Rummyantseva Yu.P., Voronina O.L., Kunda M.S., Karataev G.I. Accumulation of avirulent *Bordetella pertussis* BVG mutants in the course of experimental whooping cough in mice. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya.* 2013; 28(4): 156–61.
<https://doi.org/10.3103/S0891416813040058>
 25. Nesterova Yu.V., Medkova A.Yu., Babachenko I.V., Semin E.G., Kalisnikova E.L., Sinyashina L.N., et al. Clinical-diagnostic value of *Bordetella pertussis* genetic markers in contact persons in familial foci. *Zhurnal infektologii.* 2019; 11(1): 17–24.
<https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24> (in Russian)
 26. Kubrava D.T., Medkova A.Yu., Sinyashina L.N., Shevtsova Z.V., Matua A.Z., Kondzhariya I.G., et al. Cough of nonhuman primate. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2013; (8): 4–8.
 27. Lobzin Yu.V., Skripchenko N.V., Volzhanin V.M. New in the diagnosis, therapy, rehabilitation and prevention of infectious diseases in children (based on the results of the work of the Children's Scientific and Clinical Center for Infectious Diseases in 2016). *Zhurnal infektologii.* 2017; 9(4): 5–28. (in Russian)
 28. Warfel J.M., Beren J., Kelly V.K., Lee G., Merkel T.J. Nonhuman primate model of pertussis. *Infect. Immun.* 2012; 80(4): 1530–6. <https://doi.org/10.1128/iai.06310-11>
 29. van der Zee A., Schellekens J.F., Mooi F.R. Laboratory diagnosis of pertussis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28(4): 1005–26.
<https://doi.org/10.1128/cmr.00031-15>

Информация об авторах

Медкова Алиса Юрьевна — к.м.н., с.н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>

Лидзиева Алевтина Анатольевна — м.н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1537-6444>

Information about the authors

Alisa Yu. Medkova — senior researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>

Alevtina A. Lidzheva — junior researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1537-6444>

Семин Евгений Григорьевич — н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-6696-8362>

Синяшина Людмила Николаевна — д.м.н., в.н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

Сюндюкова Резида Анваровна — к.б.н., с.н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5600-1967>

Снегирева Надежда Анатольевна — н.с. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; м.н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5399-3224>

Чернышова Ирина Николаевна — к.м.н., с.н.с. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; н.с. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>

Гаврилова Марина Викторовна — к.б.н., н.с. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; н.с. лаб. генетики бактерий ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6936-2486>

Бушкова Кристина Константиновна — м.н.с. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-4757-0751>

Колобухина Людмила Васильевна — д.м.н., профессор, г.н.с. лаб. респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Кружкова Ирина Сергеевна — н.с. лаб. респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-1983-481X>

Меркулова Лилия Николаевна — к.м.н., в.н.с. лаб. респираторных вирусных инфекций с апробацией лекарственных средств НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>

Русанова Марина Геннадьевна — к.м.н., врач-инфекционист ИКБ № 1 ДЗМ, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-5878-7200>

Дьяков Илья Николаевич[✉] — к.б.н., в.н.с., зав. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия; н.с. лаб. медиаторов и эффекторов иммунитета НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, dyakov.ilya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>

Каратаев Геннадий Иванович — д.б.н., в.н.с., рук. лаб. генетики бактерий НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 18.06.2021;
принята к публикации 04.11.2021;
опубликована 25.12.2021

Evgeniy G. Semin — researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-6696-8362>

Lyudmila N. Sinyashina — D. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

Rezida A. Syundyukova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5600-1967>

Nadezhda A. Snegireva — researcher, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; junior researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5399-3224>

Irina N. Chernyshova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>

Marina V. Gavrilova — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; researcher, Laboratory of genetic of bacteria, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6936-2486>

Kristina K. Bushkova — junior researcher, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-4757-0751>

Lyudmila V. Kolobukhina — D. Sci. (Med.), professor, chief researcher, Laboratory of respiratory viral infections with approbation of medicines, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>

Irina S. Kruzhkova — researcher, Laboratory of respiratory viral infections with approbation of medicines, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-1983-481X>

Liliya N. Merkulova — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of respiratory viral infections with approbation of medicines, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>

Marina G. Rusanova — Cand. Sci. (Med.), infectious disease doctor, Infectious Clinical Hospital No. 1, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-5878-7200>

Ilya N. Dyakov[✉] — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, Research Institute of Vaccines and Serums named after I. I. Mechnikov, Moscow, Russia; researcher, Laboratory of immunity mediators and effectors, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, dyakov.ilya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>

Gennadiy I. Karataev — D. Sci. (Biol.), Head, Laboratory Genetic of bacterial Federal State Budgetary Institution «Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

The article was submitted 18.06.2021;
accepted for publication 04.11.2021;
published 25.12.2021