



Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детёнышей обезьян вида павиан гамадрил

Джидарян А.А.¹, Матуа А.З.¹, Медкова А.Ю.², Семин Е.Г.², Синяшина Л.Н.²,
Дьяков И.Н.^{2,3}, Чернышова И.Н.^{2,3}, Кубрава Д.Т.¹, Амичба А.А.¹,
Конджария И.Г.¹, Миквабия З.Я.¹, Каратаев Г.И.^{✉2}

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии, Сухум, Абхазия;

²Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия;

³Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова, Москва, Россия

Аннотация

Введение. В ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России разработана живая коклюшная вакцина ГамЖВК интраназального применения для профилактики коклюша, предназначенная для вакцинации детей младенческого возраста и ревакцинации всех возрастных групп населения. Доклинические исследования на сосунках мышей и крыс и взрослых обезьянах, а также клинические исследования на взрослых добровольцах показали безопасность и эффективность препарата ГамЖВК. Расширение области применения препарата ГамЖВК для вакцинации младенцев требует проведения дополнительных доклинических исследований безопасности и иммуногенности на наиболее адекватной экспериментальной модели детёнышей обезьян вида павиан гамадрил (*Papio hamadryas*).

Цель исследования: изучение безопасности и иммуногенности препарата ГамЖВК при интраназальном одно-, двух и трёхкратном введении детёнышам обезьян *P. hamadryas*.

Материалы и методы. В работе использовали 3 детёнышей обезьян *P. hamadryas* 1–2-месячного возраста, содержащихся в изолированном вольере вместе с матерями. Измерены показатели общего и биохимического анализов крови до и после иммунизации, а также экспериментальной инфекции. В сыворотках крови матерей и детёнышей определяли в динамике значения специфических антител класса IgG методом ИФА и титры общих противокклюшных антител в реакции агглютинации.

Результаты. Интраназальная иммунизация препаратом ГамЖВК детёнышей обезьян *P. hamadryas* привела к формированию специфического гуморального иммунного ответа антител класса IgG (коклюшный токсин + филаментозный гемагглютинин), увеличению титра общих противокклюшных антител в реакции агглютинации, не вызывала местных и общих реакций организма и не изменяла показатели общего и биохимического анализов крови. Экспериментальная инфекция иммунизированных препаратом ГамЖВК детёнышей обезьян *P. hamadryas* не вызывала изменений лабораторных показателей крови и клинических проявлений, характерных для коклюшной инфекции.

Ключевые слова: коклюш, живая коклюшная вакцина, интраназальное применение, обезьяны вида павиан гамадрил, *Papio hamadryas*, экспериментальная модель, иммуногенность, безопасность

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23.07.2010). Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Научно-исследовательского института экспериментальной патологии и терапии (Протокол № 3 от 16.02.2018).

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: Джидарян А.А., Матуа А.З., Медкова А.Ю., Семин Е.Г., Синяшина Л.Н., Дьяков И.Н., Чернышова И.Н., Кубрава Д.Т., Амичба А.А., Конджария И.Г., Миквабия З.Я., Каратаев Г.И. Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детёнышей обезьян вида павиан гамадрил. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(2):203–214.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>

Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine GamLVP in the experimental infant hamadryas baboon model

Anush A. Djidaryan¹, Alisa Z. Matua¹, Alisa Yu. Medkova², Evgeniy G. Semin², Lyudmila N. Sinyashina², Ilya N. Dyakov^{2,3}, Irina N. Chernyshova^{2,3}, Dzhenni T. Kubrava¹, Astanda A. Amichba¹, Irina G. Kondzariya¹, Zurab Ya. Mikvabiya¹, Gennadiy I. Karataev^{2✉}

¹Research Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia, Sukhum, Abkhazia;

²National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia;

³I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. The Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology has developed a live intranasal pertussis vaccine, GamLVP, for protection against whooping cough. It is indicated for vaccination of infants and revaccination of adults of all age groups. Preclinical studies on suckling mice or rats and adult monkeys as well as clinical trials involving adult volunteers demonstrated safety and efficacy of the GamLVP vaccine. The expansion of the GamLVP vaccine to be used for vaccination of infants requires additional preclinical studies to assess its safety and immunogenicity in the most suitable experimental model of infant hamadryas baboons (*Papio hamadryas*).

The **aim** of the study was to assess safety and immunogenicity of the GamLVP vaccine administered intranasally for a single dose, two-dose, and three-dose immunization of *P. hamadryas* infants.

Materials and methods. The study was performed in three 1–2-month-old *P. hamadryas* infants kept, together with their mothers, in a separate cage. The results of the complete blood count and biochemical profile tests were measured before and after the immunization and experimental infection. The enzyme immunoassay (EIA) was used to detect any changes in the levels of specific IgG antibodies in sera from the mothers and infants; the agglutination test (AT) was used to measure titers of total anti-pertussis antibodies.

Results. The intranasal immunization of *P. hamadryas* infants with the GamLVP vaccine triggered development of a specific humoral immune response mediated by IgG antibodies (pertussis toxin + filamentous hemagglutinin), increased titers of total agglutinating anti-pertussis antibodies, caused no local and systemic reactions, caused no changes in the complete blood count and biochemical profile. The experimental infection of the GamLVP-immunized *P. hamadryas* infants did not cause any changes in the laboratory blood test values and any clinical manifestations typical of the pertussis infection.

Keywords: *pertussis, live pertussis vaccine, intranasal administration, hamadryas baboons, Papio hamadryas, experimental model, immunogenicity, safety*

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus Author Guidelines for Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of RIEPT (Protocol No. 3, February 16, 2018).

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: Djidaryan A.A., Matua A.Z., Medkova A.Yu., Semin E.G., Sinyashina L.N., Dyakov I.N., Chernyshova I.N., Kubrava D.T., Amichba A.A., Kondzariya I.G., Mikvabiya Z.Ya., Karataev G.I. Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine GamLVP in the experimental infant hamadryas baboon model. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2022;99(2):203–214. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>

Введение

Коклюш — высококонтагиозное инфекционное заболевание, передающееся воздушно-капельным путём и вызываемое бактериями *Bordetella pertussis*. Несмотря на успехи вакцинопрофилактики, коклюш продолжает оставаться серьёзной проблемой здравоохранения во всём мире. Разработка и внедрение в практику здравоохранения во второй половине XX в. цельноклеточных коклюшных вакцин (ЦКВ) снизили заболеваемость до единич-

ных случаев на 100 тыс. населения. Эпидемиологический эффект от вакцинации позволил отнести коклюш к категории управляемых инфекций и сформировать общепринятое мнение, что это заболевание находится под сдерживающим контролем прививок. В то же время, наряду со снижением заболеваемости коклюшем, многолетняя массовая иммунизация ЦКВ выявила нежелательные побочные реакции и поствакцинальные осложнения. В ряде стран в 1990-х гг. инициировали отмену вак-

цинации против коклюша, следствием чего стало резкое увеличение заболеваемости, в том числе в тяжёлых формах со смертельным исходом. В экономически развитых странах ЦКВ были заменены на менее реактогенные бесклеточные коклюшные вакцины (БКВ) [1].

Тем не менее заболеваемость коклюшем неуклонно растёт и за последние 20 лет увеличилась почти в 10 раз [1]. Ежегодно регистрируется около 1 млн смертельных случаев, связанных с коклюшем — шестой инфекцией по частоте детской смертности. Наблюдается подъём заболеваемости коклюшем и в странах с высоким уровнем охвата прививками декретированного населения, в том числе в экономически развитых странах [1]. В России наблюдается рост заболеваемости коклюшем с локальными вспышками и формированием очагов разной интенсивности в школьных коллективах. По данным Роспотребнадзора, в 2019 г. число заболевших коклюшем увеличилось почти на 40%¹, и стало в 2,7 раза больше в сравнении с 2018 г.

Поствакцинальный иммунитет, индуцированный современными ЦКВ и БКВ, оказался недостаточно продолжительным, что способствует, по-видимому, росту числа восприимчивых к возбудителю коклюша подростков и взрослых. Увеличивающиеся случаи атипичных форм течения заболевания затрудняют диагностику коклюша. Взрослые являются резервуаром бактерий *B. pertussis* для младенцев и детей старшего возраста, а дети — для взрослых. Наличие неконтролируемого источника коклюшной инфекции, особенно в семьях с новорождёнными и в детских организованных коллективах, диктует необходимость проведения максимально ранней иммунизации и ревакцинации всех возрастных групп населения. Однако в настоящее время вакцинацию против коклюша БКВ или ЦКВ начинают не ранее 2–3-месячного возраста. Иммунизация включает три внутримышечные инъекции с интервалом 1,5 мес и ревакцинацию в 18 мес. Современные вакцины не рекомендуют для новорождённых и детей первых 2 месяцев жизни — наиболее уязвимого возраста для коклюшной инфекции и развития тяжёлых форм заболевания.

В настоящее время увеличивается доля циркулирующих бактерий *B. pertussis* с мутациями в генах, ответственных за синтез протективных антигенов, кодирующих белки, входящие в состав БКВ. Для ревакцинации подростков и взрослых используют только аАКДС (АКДС с бесклеточным коклюшным компонентом). Однако последние исследования выявили бóльшую эффективность бустерной

вакцинации в случае праймирования иммунитета у детей 1-го года жизни АКДС, содержащей ЦКВ, в сравнении с БКВ. Тем не менее в обоих случаях антитела сохранялись не более 1–3 лет, а ревакцинация не обеспечивала противобактерийной защиты. Согласно современным представлениям, для эрадикации возбудителя коклюша необходим не только, а скорее всего, не столько гуморальный иммунный ответ, но клеточный ответ, опосредованный Т-хелперами Th1 и Th17 [1]. В прямых экспериментах на приматах показано, что защита от вирулентных бактерий *B. pertussis* формируется после перенесённой коклюшной инфекции, в меньшей степени от иммунизации ЦКВ, после инъекционной вакцинации обезьян БКВ противобактерийный иммунитет не обнаруживали [2, 3].

Альтернативой ЦКВ и БКВ в настоящее время является разработанный в НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи препарат ГамЖВК (живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша для интраназального применения на основе рекомбинантных аттенуированных бактерий возбудителя коклюша [4]). Подобная рекомбинантная живая коклюшная вакцина разработана и во Франции [5]. Обе живые рекомбинантные коклюшные вакцины находятся в настоящее время на разных стадиях клинических испытаний на взрослых добровольцах. По завершении клинических исследований и получения разрешительных документов препарат ГамЖВК предполагается использовать для ревакцинации подростков и взрослых. Однако в условиях роста заболеваемости коклюшем требуются более интенсивные исследования, направленные на скорейшее внедрение безопасной, удобной для применения интраназальной вакцины, обеспечивающей противобактерийный иммунитет, в практику вакцинации наиболее уязвимой категории — новорождённых и младенцев первых месяцев жизни. В связи с этим, учитывая требования, предъявляемые к препаратам, применяемым для лечения и профилактики заболеваний детей раннего возраста и решения вопроса о проведении клинических исследований препарата ГамЖВК для детей младшего возраста, необходимо проведение доклинических исследований на экспериментальных моделях младенцев лабораторных животных.

Безопасность препарата ГамЖВК была продемонстрирована нами в экспериментах с сосунками мышей и крыс [6]. Второй признанной экспериментальной моделью, наиболее адекватной человеку, являются приматы [7, 8]. Поскольку нами разработана экспериментальная модель коклюшной инфекции на обезьянах вида макак резус (*Macaca mulatta*) и павиан гамадрил (*Papio hamadryas*) и получены доказательства безопасности, иммуногенности и противобактерийной активности препарата ГамЖВК при использовании половозрелых особей

¹ Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году». URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=18266

[8–10], представляется возможным и целесообразным провести доклинические исследования препарата ГамЖВК на младенцах обезьян.

Цель исследования: изучение безопасности и иммуногенности препарата ГамЖВК при интраназальном 1-, 2- и 3-кратном введении детёнышам обезьян вида *P. hamadryas*.

Материалы и методы

Лиофильно высушенный препарат ГамЖВК (живая коклюшная вакцина интраназального применения для профилактики коклюша) приготовлен на производстве ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи и содержит 5×10^9 живых аттенуированных бактерий *B. pertussis* [4].

Суспензию культуры вирулентных бактерий *B. pertussis* 475 готовили непосредственно перед введением. Бактерии *B. pertussis* 475 культивировали на казеино-угольном агаре с кровью в течение 24–36 ч, смывали 0,85% раствором NaCl для приготовления суспензии по стандарту оптической плотности, равной 50 МОЕ. Количество живых бактерий *B. pertussis* 475 определяли методом подсчёта КОЕ на среде с кровью в течение 3–4 сут. Культура с мутностью 50 МОЕ соответствовала количеству порадка 10^{10} КОЕ.

Использовали 3 здоровых детёнышей обезьян *P. hamadryas* в возрасте 5–7 нед, рождённых здоровыми матерями. Номера животных: 32295, 32322, 32317. Детёныши были рождены и содержались вместе с матерями в питомнике НИИЭПиТ (г. Сухум). В сыворотках крови матерей и детёнышей специфических коклюшных антител не зарегистрировано. В ротоносоглотке ДНК *B. pertussis* не выявлено. Перед отбором животных в исследование по теме 1.8. «Оценка безопасности и иммуногенности препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели младенцев павианов гамадрилов» было получено одобрение приматологической комиссии (Протокол № 4 от 12.02.2018), а проведение эксперимента, исходя из утверждённого плана работы, с соблюдением норм и стандартов по использованию лабораторных животных, было одобрено этическим комитетом НИИЭПиТ (Протокол № 3 от 16.02.2018). В ходе эксперимента ни одна обезьяна не пострадала.

За состоянием здоровья экспериментальных обезьян наблюдали при ветеринарном осмотре. Обследование матерей и детёнышей включало клинический анализ крови, анализ сыворотки крови на наличие антител к бактериям *B. pertussis*, физикальный осмотр ротоглотки и взвешивание; взятие мазков из зева и носоглотки для анализа; взвешивание детёнышей, их осмотр ветеринарным врачом, определение общего соматического здоровья, состояния ротоглотки, поведения и реакций на внешние факторы.

Экспериментальную работу с животными проводили в соответствии с ГОСТ 33218-2014 РФ и правилами работы с лабораторными животными [12].

Иммунизацию, взятие крови и назофарингеальных мазков у детёнышей проводили без наркоза. Матерей вводили в медикаментозный сон внутримышечным введением 0,03–0,04 мл золетила («Virbac») в концентрации 100 мг/мл (с премедикацией ксилазингидрохлоридом, 20 мг/мл).

Непосредственно перед интраназальным введением во флакон с препаратом ГамЖВК добавляли 0,70 мл стерильного 0,85% раствора NaCl. Лиофилизат растворялся в течение 1 мин, флакон слегка встряхивали и вводили суспензию интраназально по 0,3 мл в каждую ноздрю через шприц объёмом 2 мл с распыляющей насадкой («Shenzhen Bona Pharma Technology»).

Суспензию вирулентных бактерий *B. pertussis*, содержащую 10^{10} КОЕ, вводили по 0,50 мл также в каждую ноздрю.

Детёнышей фиксировали ручную, в положении лёжа на спине и удерживали до полного поступления жидкости в носовые полости. Матерям вирулентные бактерии вводили с использованием наркоза и прижимных клеток [8].

Кровь для анализа у детёнышей брали из паховой вены. Назофарингеальные мазки и ротоглоточные аспираты забирали с помощью назофарингеальных зондов и ротоглоточных тампонов. Кровь и аспираты от матерей отбирали по описанной ранее схеме, с использованием наркоза и прижимных клеток [8].

Образцы крови обрабатывали на автоматическом гематологическом анализаторе «Micros ES 60» («Horiba ABX»). Количество глюкозы измеряли глюкометром «Accu-Chek» («Roche»).

Анализ сыворотки крови на присутствие специфических иммуноглобулинов проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реагентов для определения IgG антител к *B. pertussis* («RIDASCREEN Bordetella IgG»). Для этого заменили Sero G HD конъюгат антител кролика к IgG обезьяны («Abscam»). Адаптированная тест-система, скорее всего, не может быть использована для количественного анализа IgG, но пригодна для оценки динамики изменения показателя. В реакции прямой агглютинации (РПА) применяли набор «Диагностикум коклюшный жидкий» («Эколаб»).

Для молекулярно-биологического анализа использовали ДНК *B. pertussis*, выделенную из смывов заднеглоточных и назофарингеальных зондов. Осадки из этих препаратов после центрифугирования обрабатывали раствором гуанидинтиоцианата с последующей сорбцией ДНК на магнитном сорбенте («Promega») [13, 14]. Для определения количества геном-эквивалентов ДНК *B. pertussis* в аспира-

тах использована разработанная и валидированная нами тест-система полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) [13, 14].

Дизайн исследования

Трём детёнышам *P. hamadryas* интраназально с помощью аэрозольного ингалятора вводили суспензию аттенуированных бактерий *B. pertussis* в количестве 5×10^9 КОЕ (1 доза вакцины ГамЖВК). Первую реиммунизацию проводили через 3,0–3,5 мес после иммунизации, вторую реиммунизацию — ещё через 3,0–3,5 мес. Через 12 мес после второй реиммунизации детёнышей экспериментально инфицировали изогенными вирулентными бактериями возбудителя коклюша (*B. pertussis* 475).

Биоматериал собирали в динамике в следующие сроки:

- перед иммунизацией (фоновые значения) — контрольная точка (к.т.) 1.0;
- через 1 ч после иммунизации (только мазок);
- на 3-й день после иммунизации;
- через 1 нед после иммунизации — к.т. 1.1;
- через 2 нед после иммунизации — к.т. 1.2;
- через 1 мес после иммунизации — к.т. 1.3;
- через 1,5 мес после иммунизации — к.т. 1.4;
- через 2 мес после иммунизации — к.т. 1.5;
- перед первой реиммунизацией — к.т. 2.0;
- через 1 ч после первой реиммунизации (мазок);
- через 3 дня после первой реиммунизации;
- через 1 нед после первой реиммунизации — к.т. 2.1;
- через 2 нед после первой реиммунизации — к.т. 2.2;
- через 1 мес после первой реиммунизации — к.т. 2.3;
- через 1,5 мес после первой реиммунизации — к.т. 2.4;
- через 3–4 мес после первой реиммунизации — к.т. 2.5;
- перед второй реиммунизацией — к.т. 3.0;
- через 1 ч после второй реиммунизации (мазок);
- через 1 нед после второй реиммунизации — к.т. 3.1;
- через 2 нед после второй реиммунизации — к.т. 3.2;
- через 1 мес после второй реиммунизации — к.т. 3.3;
- через 1,5 мес после второй реиммунизации — к.т. 3.4;
- через 3 мес после второй реиммунизации — к.т. 3.5.

В те же сроки, кроме точки «1 ч после введения препарата», брали биоматериал и у матерей. Через 12 мес после второй реиммунизации было проведено экспериментальное инфицирование животных вирулентными изогенными бактериями *B. pertussis*

475. Материал для анализа отбирали в те же сроки, что и после иммунизации.

Результаты

Разработка экспериментальной модели коклюшной инфекции на детёнышах обезьян

Результаты экспериментов с детёнышами обезьян недостаточно описаны в литературе. По этой причине на первом этапе было необходимо определить саму возможность и методы работы с обезьянами младенческого возраста (в 1–2-месячном возрасте). Для решения этой задачи, учитывая социальные особенности поведения животных в семьях с детёнышами, а также имеющийся отрицательный опыт изоляции детёнышей от матерей, было принято решение по изоляции от семьи матерей с детёнышами. Учитывая объём анализов, прежде всего крови, необходимый для оценки безопасности препаратов и оценки развития коклюшной инфекции, в качестве модели были выбраны наиболее крупные, доступные для экспериментов обезьяны вида *P. hamadryas*.

Все обезьяны на начало эксперимента находились в состоянии клинического и соматического здоровья и были серонегативными к антигенам *B. pertussis*. За самками наблюдали во время их беременности и после рождения детёнышей. Даты рождения детёнышей отличались у разных самок, в связи с этим иммунизацию и соответствующее обследование обезьян проводили в разное время.

В эксперимент были включены 3 самки обезьян *P. hamadryas*, каждая со своим детёнышем. Нумерация обезьян осуществлялась в месячном возрасте в связи с невозможностью более раннего отлучения детёнышей от матери. В документах отмечали номер регистрации матери, отца, расположение семьи и номер детёныша. По достижении малышами месячного возраста мать с детёнышем загоняли в прижизненную клетку. Мать вводили в медикаментозный сон, а детёныша переносили в манипуляционную комнату для осуществления всех требуемых процедур. Все манипуляции с детёнышем проводили на заранее подготовленной одноразовой пелёнке. Перенос детёныша и все манипуляции контролировал ветеринарный врач. Манипуляции со спящей матерью (взятие мазков, крови, осмотр врачом) проводили в отдельной комнате. Детёныша возвращали матери до её пробуждения. Матери с детёнышами, участвующие в эксперименте, находились в общем помещении (загоне), отдельно от остальных членов семей на протяжении всего времени наблюдения.

Безопасность интраназального введения обезьян ГамЖВК

Для решения поставленной задачи нами разработан следующий дизайн исследования. Препарат

ГамЖВК вводили в положении лёжа на спине интраназально в каждую ноздрю через шприц с распылителем-актуатором по 0,3 мл суспензии, содержащей $4-5 \times 10^9$ КОЕ.

Детёнышам проводили первичную иммунизацию в возрасте 1 мес и в более позднем возрасте — 2 реиммунизации с интервалом 3,0–3,5 мес. Через 12 мес после второй реиммунизации детёнышей экспериментально инфицировали изогенными вирулентными бактериями возбудителя коклюша.

Критериями оценки безопасности препарата ГамЖВК и введения вирулентных бактерий *B. pertussis* 475 служило отсутствие отклонений от нормы клинического анализа крови, состояния здоровья обезьян — отсутствие местных реакций, потери массы и изменения поведения. За поведением детёнышей и матерей регулярно наблюдали на протяжении всего срока эксперимента.

На протяжении всего периода наблюдения не было выявлено отклонений в состоянии здоровья и развитии детёнышей, в том числе не было обнаружено признаков кашля, изменения температуры и нарушения прироста массы, местных реакций на каждое из трёх интраназальных введений ГамЖВК и экспериментальное инфицирование. Результаты общего клинического анализа крови в первые 2 нед наблюдения — сроки, определённые как наиболее значимые по результатам предыдущих исследований на взрослых животных, приведены в **таблице**. Не было отмечено значимого изменения СОЭ и общего соматического состояния и анализов крови у матерей (результаты приведены только после экспериментальной инфекции), находящихся в постоянном контакте с иммунизированными детёнышами.

Иммуногенность ГамЖВК после интраназального введения детёнышам обезьян и их экспериментального инфицирования *B. pertussis*

Во всех описанных нами ранее исследованиях анализ сыворотки крови обезьян на присутствии специфических иммуноглобулинов проводили с помощью наборов реагентов («RIDASCREEN Bordetella IgG»), предназначенных для ИФА сыворотки крови человека [6, 8–10]. Для адаптации тест-системы к иммуноглобулинам произведена замена конъюгата антител кролика к IgG человека, входящего в набор, на конъюгат антител кролика к IgG обезьяны. Подбор рабочих разведений конъюгата и анализируемой сыворотки был проведён в результате постановок контрольных реакций ИФА с использованием планшетов со специфическими антигенами — коклюшным токсином (КТ) и филаментозным гемагглютинином (ФГА) — и конъюгата антител кролика к IgG обезьяны. В качестве стандарта использованы отобранные и охарактеризованные ранее сыворотки крови контрольных обезьян и обезьян, экспериментально инфицированных вирулентными бактериями *B. pertussis*. Для постановки реакции ИФА на модифицированном наборе определено рабочее разведение конъюгата 1 : 40 000 и сыворотки крови 1 : 20.

На **рис. 1** представлены результаты определения оптической плотности (ОП) в лунках планшет ИФА, содержащих разведённые сыворотки иммунизированных обезьян, в динамике после первого интраназального введения ГамЖВК и двух реиммунизаций. Значения ОП принимали в качестве характеристики содержания антител IgG в исследуемом образце. После первой иммунизации толь-

Биохимический анализ крови павианов гамадрилов после интраназальной иммунизации аттенуированными бактериями *B. pertussis* и экспериментальной инфекции вирулентными бактериями *B. pertussis* 475

Biochemical profile test results for hamadryas baboons after the intranasal immunization with attenuated bacteria *B. pertussis* and the experimental infection with virulent bacteria *B. pertussis* 475

Интраназальная инокуляция Intranasal inoculation		Срок исследования, сут Timing, days	Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/L	Лейкоциты, × 1000 Leukocytes, × 1000	Лимфоциты, % Lymphocytes, %
Первая иммунизация детёнышей First immunization of infants		Фон / Background	6,8 ± 0,8	10,8 ± 2,9	59,5 ± 7,4
		7	7,5 ± 1,2	11,5 ± 1,7	50,7 ± 3,7
		14	6,7 ± 0,7	10,1 ± 1,5	63,5 ± 7,8
Первая реиммунизация детёнышей Repeat immunization of infants		Фон / Background	7,4 ± 1,6	9,5 ± 2,2	35,5 ± 2,0
		7	6,3 ± 0,9	13,4 ± 3,7	29,5 ± 5,2
		14	6,7 ± 1,4	12,1 ± 4,9	22,9 ± 6,3
Экспериментальная инфекция бактериями <i>B. pertussis</i> 475 иммунизированных детёнышей и взрослых обезьян Experimental infection of immunized infants and adult monkeys with <i>B. pertussis</i> bacteria 475	детёныши infants monkeys	Фон / Background	6,5 ± 0,8	13,8 ± 3,1	58,5 ± 10,7
		7	6,1 ± 0,3	10,2 ± 1,7	40,5 ± 12,4
		14	7,0 ± 1,2	13,0 ± 1,7	41,7 ± 9,5
Экспериментальная инфекция матерей Experimental infection of mothers	матери mothers	Фон / Background	7,5 ± 0,5	20,5 ± 3,6	31,5 ± 2,0
		7	8,0 ± 1,5	11,9 ± 4,7	35,0 ± 2,0
		14	7,7 ± 1,0	10,6 ± 0,7	31,0 ± 2,0

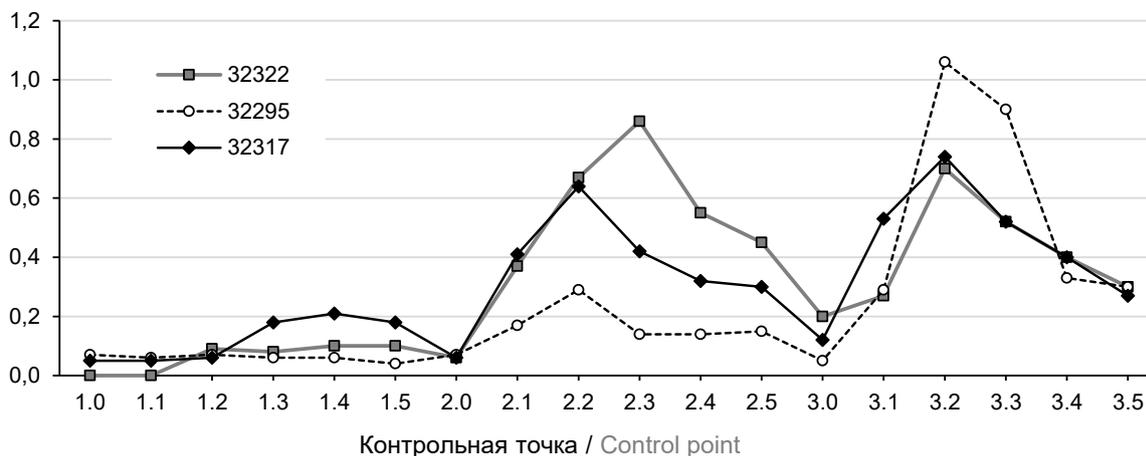


Рис. 1. Динамика изменения количества специфических коклюшных иммуноглобулинов класса IgG (КТ + ФГА) в сыворотке крови детёнышей обезьян после интраназального введения ГамЖВК.

По оси ординат — ОП в лунке (среднее из 2 повторов), отн. ед.

Fig. 1. Changes in the level of specific pertussis IgG immunoglobulins (PT + FHA) in sera from infant monkeys after the intranasal application of the GamLVP vaccine.

Vertical axis — OD in the well (the mean of 2 repeats), rel. units.

ко у одного детёныша зарегистрировано некоторое количество фоновых антител IgG, достигающее максимума к 28–43-му дню. После 2 последующих реиммунизаций значимый рост специфических IgG наблюдался спустя 1 нед и достигал максимума через 14–30 дней после первой реиммунизации и 7–14 дней — после второй.

В РПА определяли титры противокклюшных антител, образовавшихся в ответ на интраназальное введение препарата ГамЖВК. Для постановки реакции использовали суспензию бактерий *B. pertussis* и различные разведения сыворотки крови иммунизи-

рованных обезьян. После первой иммунизации агглютинация сывороткой практически отсутствовала, тогда как после двух реиммунизаций быстро нарастала и достигала максимума через 14–30 дней (**рис. 2**).

Через 12 мес после второй реиммунизации было проведено экспериментальное инфицирование животных вирулентными изогенными бактериями *B. pertussis* 475. Количество специфических IgG (КТ + ФГА) и титр агглютинации у матерей и детёнышей после экспериментальной инфекции достигали максимума уже к 14-му дню и сохранялись на высоком уровне до конца наблюдения (**рис. 3, 4**).

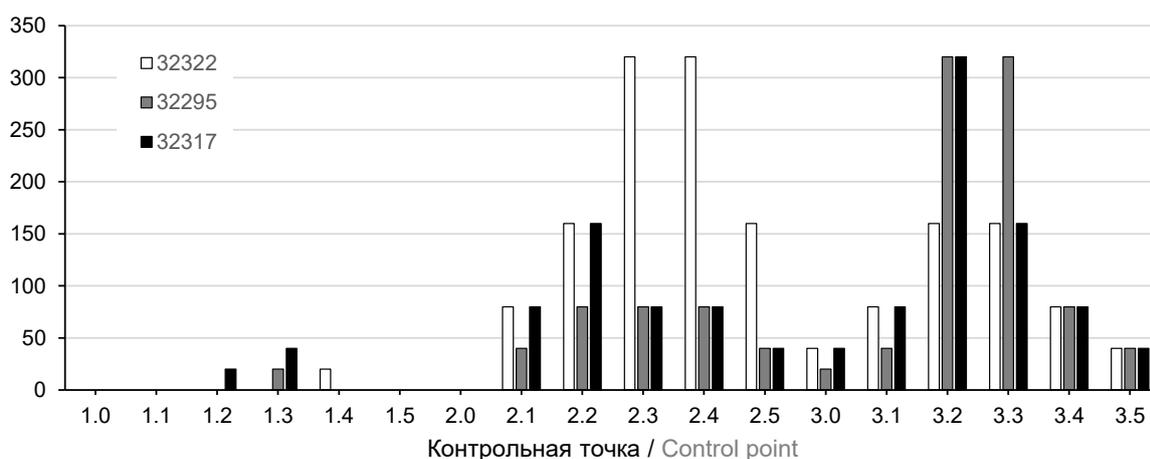


Рис. 2. Динамика изменения титров агглютинации с сывороткой крови младенцев обезьян в РПА после интраназального введения препарата ГамЖВК.

По оси ординат — максимальные титры агглютинации с бактериями *B. pertussis*. Агглютинация контрольных культур *B. pertussis* с сывороткой крови матерей 31949, 31993 отсутствовала.

Fig. 2. Changes in titers of agglutination with sera from infant monkeys in DAT after intranasal immunization with the GamLVP vaccine.

Vertical axis — the highest titers of agglutination with bacteria *B. pertussis*. Agglutination of control *B. pertussis* cultures with sera from mothers 31949, 31993 was absent.

Обсуждение

Проведённые нами ранее доклинические исследования показали, что неоднократное интраназальное введение препарата ГамЖВК взрослым

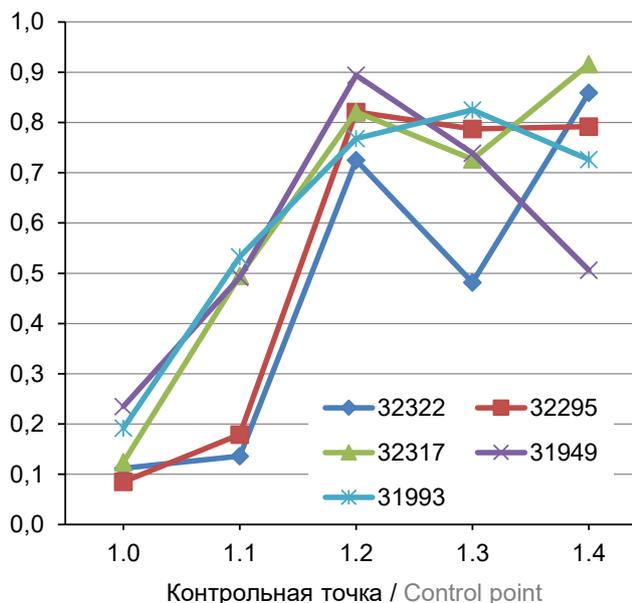


Рис. 3. Динамика изменения количества специфических коклюшных иммуноглобулинов класса IgG (КТ + ФГА) в сыворотках крови у иммунизированных младенцев обезьян и их матерей после экспериментального инфицирования вирулентными бактериями *B. pertussis* 475.

По оси абсцисс — ОП в лунке, отн. ед.; 31949 — мать детёныша 32317; 31993 — мать детёныша 32295.

Fig. 3. Changes in the levels of specific pertussis IgG immunoglobulins (PT + FHA) in sera from immunized infant monkeys and their mothers after the experimental infection with virulent bacteria *B. pertussis* 475.

Horizontal axis — OD in the well, rel. units; 31949 — the infant's mother 32317; 31993 — the infant's mother 32295.

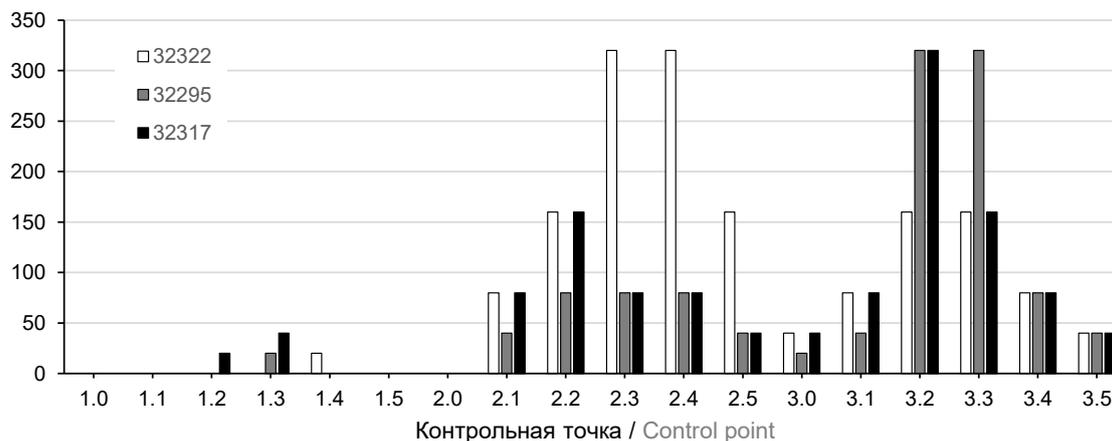


Рис. 4. Динамика изменения титров агглютинации в сыворотках крови у иммунизированных младенцев обезьян и их матерей после экспериментального инфицирования вирулентными бактериями *B. pertussis* 475.

По оси абсцисс — ОП в лунке, отн. ед.; 31949 — мать детёныша 32317; 31993 — мать детёныша 32295.

Fig. 4. Changes in agglutination titers in sera from immunized infant monkeys and their mothers after the experimental infection with virulent bacteria *B. pertussis* 475.

Horizontal axis — OD in the well, rel. units; 31949 — the infant's mother 32317; 31993 — the infant's mother 32295.

обезьянам не вызывало отклонений от нормы соматического здоровья и изменения поведения. Последующее экспериментальное инфицирование вирулентными бактериями *B. pertussis* иммунизированных обезьян не приводило к формированию клинических и лабораторных показателей течения коклюшной инфекции [8–10]. Полученные нами данные указывали на безопасность, хорошую переносимость и иммуногенность препарата ГамЖВК. Результаты 2 этапов клинического исследования ГамЖВК на здоровых добровольцах подтвердили сделанный вывод.

Экспериментальное инфицирование нативных (контрольных, неиммунизированных) обезьян сопровождалось развитием ряда клинических симптомов и лабораторных показателей развития коклюшной инфекции и формирования иммунного ответа, соответствующих течению коклюша у людей [8–10]. Наблюдения за детёнышами и матерями *P. hamadryas*, проведённые в настоящем исследовании, также не выявили отклонения от нормы или динамических изменений измеренных параметров, в том числе увеличения количества лимфоцитов и снижения уровня глюкозы, характерных при развитии коклюшной инфекции у обезьян и человека. Из-за невозможности отбора более 1 мл крови удалось выполнить только общий анализ крови и определить глюкозу с помощью глюкометра. Представленные результаты подтверждают безопасность и хорошую переносимость ГамЖВК — отсутствие местных и общих реакций, стабильность всех измеренных показателей: общего и биохимического анализов крови после трехкратного интраназального введения детёнышам *P. hamadryas*.

Особенностью работы с использованной экспериментальной моделью является ограничение

на взятие необходимых для исследования объёмов крови в возрасте 1 мес, а также физиологическая и психологическая привязанность матерей и детёнышей. Это обстоятельство было учтено при выборе параметров для анализа, особенно после первичной иммунизации. В качестве приоритетных для оценки показателей безопасности и иммуногенности выбраны приведённые в работе показатели. На следующем этапе предполагается провести оценку недостающих параметров безопасности (аланин- и аспаратаминотрансферазы).

Предыдущий этап исследования с использованием половозрелых обезьян показал, что экспериментальное инфицирование после иммунизации препаратом ГамЖВК вирулентными бактериями *B. pertussis* приводит к формированию защитной реакции организма, проявляющейся в выраженном росте специфических IgG, достигающем максимума спустя 7–14 дней после вторичной иммунизации или повторного инфицирования, и ускоренному выведению бактерий *B. pertussis* из ротоносоглотки [8]. Аналогичную картину наблюдали после реиммунизации обезьян препаратом ГамЖВК [8–10]. При клинических исследованиях ГамЖВК также наблюдали нарастающий после повторной вакцинации добровольцев иммунный ответ [15].

Для характеристики иммунного ответа детёнышей обезьян нами использована тест-система «RIDASCREEN Bordetella IgG», предназначенная для ИФА сыворотки крови человека [6, 8–10]. Однако приобретённые у того же производителя тест-системы другого лота не выявляли антител IgG в сероположительных сыворотках крови взрослых обезьян видов *P. hamadryas* и *M. mulatta*. Консультации с производителем позволили предположить, что отрицательный результат связан с отсутствием связывания конъюгата к IgG человека у нового лота набора с иммуноглобулином обезьяны. Этот результат потребовал замены конъюгата человека на конъюгат обезьяны *M. mulatta*. На рис. 1 представлены результаты измерения специфических коклюшных антител класса IgG с помощью модифицированной нами тест-системы. Наблюдаемая на рис. 1 картина не имеет принципиальных отличий от динамики нарастания IgG-антител после иммунизации взрослых обезьян и добровольцев [6, 8–10]. Как и в первом случае, только у части обезьян зарегистрированы некоторое количество фоновых антител IgG после первой иммунизации и значительное нарастание при реиммунизациях.

Ещё одним используемым в настоящее время методом определения иммуногенности коклюшных вакцин является определение титров агглютинации с суспензией бактерий *B. pertussis* с разведениями сывороток крови иммунизированных людей и животных. Значение 1 : 160 заложено в национальном стандарте России в качестве определяющего

при оценке защитной активности ЦКВ при полном курсе первичной вакцинации детей². Результаты, представленные на рис. 2, показывают, что динамика изменения титров агглютинации качественно не отличается от изменения количества антител IgG в сыворотке крови обезьян. У 2 из 3 детёнышей после первичной иммунизации не зарегистрировано роста титра в РПА и сывороточных специфических коклюшных антител класса IgG. У детёныша № 32317 через 1,5 мес зарегистрировали четырёхкратное увеличение антител IgG в сравнении с базовым значением и рост титра в ПА до значения 1 : 40. Через 3 мес количество IgG и значение титра агглютинации снизились до исходного уровня.

Повторное введение вакцины (реиммунизация) всем 3 детёнышам обезьян привело к значительно более раннему росту антител IgG в сыворотке крови. У всех детёнышей значимый рост IgG отмечали уже через 1 нед с максимумом на 2–4 нед. Через 6 мес после первичной иммунизации только одна обезьяна сохраняла уровень IgG достоверно выше исходного. Результаты третьего введения (вторая реиммунизация) принципиально не отличались от второго, как и после экспериментального инфицирования, подобно взрослым обезьянам. При этом у детёнышей значения титров антител IgG достигали максимума после первичного введения несколько позже (через 14–28 дней), чем у взрослых обезьян (7–14 дней). После второй реиммунизации IgG у детёнышей выходили на максимум уже через 7–14 дней. Следует отметить, что реиммунизации через 3,0–3,5 мес при последующем выраженном бустерном эффекте проводились на фоне низкого, близкого к фоновому уровню IgG. После повторных введений ГамЖВК детёнышам у контактировавших с ними матерей не было зарегистрировано значительного роста IgG и увеличения титра агглютинации в РПА.

Таким образом, интраназальная иммунизация детёнышей обезьян *P. hamadryas* препаратом ГамЖВК приводила к формированию противокклюшного иммунного ответа, характеризующегося нарастанием количества специфических IgG (КТ + ФГА) и титров антител в РПА. Бустерный эффект повторной иммунизации свидетельствовал о целесообразности реиммунизации с целью достижения максимального защитного эффекта. Полученные результаты соответствовали описанным нами ранее у взрослых обезьян [8–10] и позволяют предположить, что, несмотря на невысокие средние

² Методические указания «3.1. Профилактика инфекционных болезней. Организация и проведение серологического мониторинга состояния коллективного иммунитета к инфекциям, управляемым средствами специфической профилактики (дифтерия, столбняк, коклюш, корь, краснуха, эпидемический паротит, полиомиелит, гепатит В)». URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200088401>

значения уровня антител IgG (КТ + ФГА) в ИФА и общих противокклюшных антител в РПА, первичная иммунизация детёнышей обезьян препаратом ГамЖВК способна обеспечивать защитный иммунный ответ при повторном контакте с коклюшной инфекцией. Эффективность одно- или двукратно-го первичного введения препарата ГамЖВК для формирования напряжённого и более продолжительного противобактерийного иммунитета предполагается изучать в дальнейших исследованиях при помощи экспериментальной модели обезьян и в клинических исследованиях на здоровых добровольцах.

Через 12 мес после второй реиммунизации проведено экспериментальное инфицирование детёнышей обезьян вирулентными изогенными бактериями *B. pertussis* 475. Динамика изменения содержания антител IgG (КТ + ФГА) у детёнышей соответствовала описанной нами ранее у взрослых обезьян [9]. Особенный интерес представлял быстрый и значительный рост антител IgG в сыворотке крови матерей при их практическом отсутствии на протяжении всего срока после иммунизации детёнышей. Рост титров антител в сыворотке матерей отмечен примерно в те же сроки, что и у детёнышей, — на 14-й и 28-й дни после инфекции (рис. 4), но был менее выраженным и быстрее возвращался к первоначальному уровню. Быстрое увеличение уровня специфических антител в сыворотке крови матерей после экспериментального инфицирования свидетельствует о возможной пассивной иммунизации матерей при тесном контакте с иммунизированными детёнышами. В пользу такого предположения свидетельствует отсутствие лабораторных показателей и клинических признаков коклюшной инфекции у матерей после экспериментальной инфекции вирулентными бактериями.

Напряжённость и длительность формирования защитного иммунитета от коклюша после вакцинации и/или перенесённой инфекции оценивается по наличию гуморального и клеточного противобактерийного ответа. Во втором случае, говоря о противокклюшном иммунитете, прежде всего оценивают индуцированную продукцию интерферона и интерлейкина-17 полиморфноядерными клетками крови [1]. Такая работа была проведена нами ранее в доклинических экспериментах со взрослыми обезьянами и осуществляется в настоящее время в рамках клинических исследований на здоровых добровольцах [9, 15]. Однако наиболее адекватное представление о защитном потенциале препарата ГамЖВК, с нашей точки зрения, может дать сравнительный показатель времени элиминации бактерий *B. pertussis* (вирулентных и/или аттенуированных) у иммунизированных и нативных животных.

В дальнейшем планируется изучение структуры популяции аттенуированных бактерий

B. pertussis и их персистенции в организме. Скорость элиминации бактерий *B. pertussis* и динамика измерения количества их ДНК в назофарингеальных и ротоглоточных аспиратах будет изучена с помощью метода ПЦР-РВ и созданной нами тест-системы.

Заключение

Отсутствие местных и общих реакций организма у детёнышей обезьян вида *P. hamadryas*, а также стабильность показателей клинических анализов крови и выраженный бустерный эффект после реиммунизации и экспериментального инфицирования свидетельствуют о наличии защитной реакции организма детёнышей, иммунизированных препаратом ГамЖВК, от коклюшной инфекции и подтверждают его безопасность при интраназальном введении. Наличие бустерного антительного ответа после экспериментального инфицирования у неиммунизированных матерей, которые находились в тесном контакте с иммунизированными детёнышами, указывает на формирование у матерей противобактерийного иммунного ответа.

Созданный нами препарат ГамЖВК на основе аттенуированных бактерий *B. pertussis* представляется наиболее перспективным для формирования коллективного иммунитета против коклюша и так называемого семейного «коккона».

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kilgore P.E., Salim A.M., Zervos M.J., Schmitt H.J. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3): 449–85. <https://doi.org/10.1128/cmr.00083-15>
2. Warfel J.M., Zimmerman L.I., Merkel T.J. 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/cvi.00449-15>
3. 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>
4. Сёмин Е.Г., Синяшина Л.Н., Медкова А.Ю., Каратаев Г.И. Конструирование рекомбинантных аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* генотипа *ptxP3*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; (4): 33–41. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-33-41>
5. Li R., Lim A., Ow S.T., Phoon M.C., Loch C., Chow V.T., 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>
6. Синяшина Л.Н., Сёмин 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/10.31631/2073-3046-2018-17-6-98-108>
7. 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>

8. Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю., Сinyaшина Л.Н., Шевцова З.В., Матуа А.З., Конджария И.Г. и др. Экспериментальный коклюш у обезьян. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; 68(8): 28–33. <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i8.720>
9. Медкова А.Ю., Сinyaшина 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>
10. Каратаев Г.И., Сinyaшина 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>
11. Медкова А.Ю., Лиджиева А.А., Семин Е.Г., Сinyaшина 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>
12. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eighth Edition*. Washington: The National Academies Press; 2011.
13. Медкова А.Ю., Сinyaшина Л.Н., Румянцева Ю.П., Вороница 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; (4): 22–6.
14. Нестерова Ю.В., Медкова А.Ю., Бабаченко И.В., Семин Е.Г., Калисникова Е.Л., Сinyaшина 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>
15. Медкова А.Ю., Лиджиева А.А., Семин Е.Г., Сinyaшина Л.Н., Сюндюкова Р.А., Снегирёва Н.А. и др. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(6): 706–20. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>
- bacteria of *ptxP3* genotype. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2018; (4): 33–41. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-33-41> (in Russian)
5. Li R., Lim A., Ow S.T., Phoon M.C., Loch C., Chow V.T., 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>
6. 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 vaktsinoprofilaktika*. 2018; 17(6): 98–108. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-6-98-108> (in Russian)
7. 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>
8. 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; 68(8): 28–33. <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i8.720> (in Russian)
9. 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)
10. 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): 422–30. <https://doi.org/10.7868/S0016675816030085> (in Russian)
11. 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)
12. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eighth Edition*. Washington: The National Academies Press; 2011.
13. 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. *Moлекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013; (4): 22–6. (in Russian)
14. 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)
15. Medkova A.Yu., Lidzheva A.A., Semin E.G., Sinyashina L.N., Syundyukova R.A., Snegireva N.A., et al. Immunogenicity of the drug «Live intranasal vaccine for the prevention of pertussis» (GamLPV) with a single use in healthy volunteers. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021; 98(6): 706–20. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194> (in Russian)

Информация об авторах

Джидарян Ануш Ашотовна — старший лаборант с высшим образованием лаб. иммунологии и вирусологии НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0002-8792-5289>

Матуа Алиса Зауровна — к.б.н., зам. директора по научной работе, зав. лаб. иммунологии и вирусологии НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0003-3275-0941>

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

Сёмин Евгений Григорьевич — н.с. лаб. генетики бактерий ФНИЦЭМ 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 ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

Дьяков Илья Николаевич — к.б.н., в.н.с., зав. лаб. биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>

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

Кубрава Джэнни Тамазовна — м.н.с. лаб. иммунологии и вирусологии НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0001-9104-4014>

Амичба Астанда Арнольдовна — м.н.с. лаб. иммунологии и вирусологии НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0002-4986-1392>

Конджария Ирина Георгиевна — к.б.н., с.н.с. лаб. иммунологии и вирусологии НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0003-3707-4874>

Миквабия Зураб Ясонович — д.м.н., профессор, директор НИИЭПит, Сухум, Абхазия, <https://orcid.org/0000-0002-0729-6516>

Каратаев Геннадий Иванович — д.б.н., в.н.с., рук. лаб. генетики бактерий ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия, karataevgi@rambler.ru, <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 13.08.2021;
принята к публикации 18.03.2022;
опубликована 30.04.2022

Information about the authors

Anush A. Djidaryan — senior laboratory assistant with higher education, Laboratory of virology and immunology, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0002-8792-5289>

Alisa Z. Matua — Cand. Sci. (Biol.), Deputy Director of science, Head, Laboratory of immunology and virology, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0003-3275-0941>

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

Evgeniy G. Semin — researcher, Laboratory of bacteria genetics, Federal Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

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

Ilya N. Dyakov — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Head, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>

Irina N. Chernyshova — Cand. Sci. (Med.), senior researcher, Laboratory of biosynthesis of immunoglobulins, I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>

Dzhenni T. Kubrava — junior researcher, Laboratory of virology and immunology, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0001-9104-4014>

Astanda A. Amichba — junior researcher, Laboratory of virology and immunology, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0002-4986-1392>

Irina G. Kondzariya — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of virology and immunology, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0003-3707-4874>

Zurab Ya. Mikvabiya — D. Sci. (Med.), Professor, Director, Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Sukhum, Abkhazia, <https://orcid.org/0000-0002-0729-6516>

Gennadiy I. Karataev — D. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of bacteria genetics, 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 13.08.2021;
accepted for publication 18.03.2022;
published 30.04.2022