

19. Stafford S.L., Bokil N.J., Achard M.E.S. et al. Metal ions in macrophage antimicrobial pathways: emerging roles for zinc and copper. *Bioscience Reports*. 2013, 33 (4): 541-554.
20. Weston B.F., Brenot A., Caparon M.G. The metal homeostasis protein, Lsp, of *Streptococcus pyogenes* is necessary for acquisition of zinc and virulence. *Infect. Immunity*. 2009, 77 (7): 2840-2848.
21. Whidbey C., Vornhagen J. A streptococcal lipid toxin induces membrane permeabilization and pyroptosis leading to fetal injury. *EMBO Mol. Med*. 2015, 7: 488-505.

Поступила 15.08.16

Контактная информация: Чекнев Сергей Борисович, д.м.н.,
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18, р.т. (499)190-43-88

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*С.А.Гуляев¹, А.А.Ляшенко¹, А.М.Чумаков¹, А.А.Сорокин¹, И.В.Гордейчук¹,
И.А.Потемкин^{2,3}, О.В.Исаева^{2,3}, К.К.Кюрегян^{2,3}, М.И.Михайлов^{2,3}*

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ ПРОТОТИПНОГО ВАКЦИННОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ ГЕПАТИТА Е

¹ФНЦ исследования и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П.Чумакова,
²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования,
³НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

Цель. Оценить специфическую иммуногенную активность прототипного варианта вакцины против гепатита Е (ГЕ). *Материалы и методы.* Нелинейных мышей, самцов (n=170), иммунизировали однократно внутривнутрибрюшинно прототипной вакциной против ГЕ в дозах 5, 10 и 20 мкг/животное. Анти-ВГЕ IgG определяли методом ИФА с видоспецифичным конъюгатом на 7, 14, 21 и 28 дни после иммунизации. Для оптимизации условий иммуногенности вакцины 250 мышам, разделенным на 25 групп по 10 голов в каждой, однократно вводили экспериментальные образцы вакцинного препарата, содержащие 20 мкг антигена и композиции адъювантов на основе алюминия гидроксида и иммуномодуляторов полиоксидония и глутоксима. Анти-ВГЕ определяли в образцах сыворотки крови мышей на 28 день после иммунизации и рассчитывали среднюю иммунизирующую дозу (ID₅₀) для каждой композиции вакцинного препарата. *Результаты.* Увеличение иммуногенности при одной и той же стандартной дозе антигена (20 мкг) при использовании в качестве адъюванта глутоксима в концентрации 10 мг/мл в растворе алюминия гидроксида (0,5 мг/мл) составило 51,4%. Для композиции вакцины с полиоксидонием (1,0 мг/мл) также наблюдали незначительное увеличение иммуногенности, однако оно не было статистически значимым при сравнении со стандартным адъювантом (алюминия гидроксид 0,5 мг/мл). *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о высокой иммуногенности вакцинного препарата против гепатита Е. Применение в композиции экспериментальной вакцины против гепатита Е иммуномодулятора глутоксима обеспечивает ее наибольшую иммуногенность.

Журн. микробиол., 2017, № 3, С. 35—43

Ключевые слова: вирус гепатита Е (ВГЕ), анти-ВГЕ, антиген, вакцина, иммуногенность

*S.A.Gulyaev¹, A.A.Lyashenko¹, A.M.Chumakov¹, A.A.Sorokin¹, I.V.Gordeichuk¹,
I.A.Potemkin^{2,3}, O.V.Isaeva^{2,3}, K.K.Kyuregyan^{2,3}, M.I.Mikhaylov^{2,3}*

STUDY OF IMMUNOGENICITY OF A PROTOTYPE VACCINE AGAINST HEPATITIS E

¹Chumakov Federal Scientific Centre of Research and Development of Immune Biological Preparations, ²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, ³Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Aim. Evaluate specific immunogenic activity of a prototype vaccine against hepatitis E (HE). *Materials and methods.* Non-linear mice, male (n=170), were immunized once intraperitoneally by a prototype vaccine against HE at 5, 10 and 20 µg per animal. Anti-HEV IgG were determined by ELISA using species-specific conjugate at days 7, 14, 21 and 28 after immunization. Experimental samples of the vaccine preparation containing 20 µg of the antigen and compositions of adjuvants based on aluminium hydroxide and immune modulators polyoxidonium and glutoxim were administered to 250 mice split into 25 groups (10 animals per group) to optimize vaccine immunogenicity. Anti-HEV were determined in mice sera samples at day 28 after the immunization, and mean immunization dose (ID₅₀) for each composition of the vaccine preparation was calculated. *Results.* Increase of immunogenicity for the same standard antigen dose (20 µg) for glutoxim adjuvant at 10 mg/ml in aluminium hydroxide solution (0,5 mg/ml) was 51.4%. A non-significant increase of immunogenicity was also observed for vaccine composition with polyoxidonium (1.0 mg/ml), however, it was statistically non-significant when compared with standard adjuvant (aluminium hydroxide at 0,5 mg/ml). *Conclusion.* The data obtained give evidence regarding high immunogenicity of the vaccine preparation against hepatitis E. Use of glutoxim immune modulator in the composition of the experimental vaccine against hepatitis E ensures highest immunogenicity.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 3, P. 35—43

Key words: hepatitis E virus (HEV), anti-HEV, antigen, vaccine, immunogenicity

ВВЕДЕНИЕ

Инфекция, вызываемая вирусом гепатита E (ВГЕ), является одной из основных причин заболеваемости острым гепатитом в эндемичных регионах Азии, Ближнего Востока и Африки, однако в последние годы также описаны спорадические случаи и даже вспышки заболевания на неэндемичных территориях, включая РФ. Резервуаром ВГЕ на неэндемичных территориях являются дикие и домашние животные, в частности свиньи. Попадание фекалий инфицированных животных в воду приводит к вспышечной заболеваемости с вовлечением в эпидемический процесс большого количества восприимчивых лиц. Наиболее адекватной мерой специфической профилактики гепатита E (ГЕ) в этих условиях является вакцинация групп риска, а также животных, формирующих резервуар вируса. Эпидемиологические особенности распространения ВГЕ-инфекции во многом зависят от генотипа (ГТ) вируса. ГТ1 и ГТ2 инфицируют только человека и вызывают эпидемии в эндемичных регионах, при этом источником инфекции на эндемичных территориях являются инфицированные лица. ГТ3 и ГТ4 инфицируют как человека, так и некоторых животных и вызывают вспышки заболевания на неэндемичных территориях. Основными генотипами ВГЕ, циркулирующими на эндемичных территориях, являются ГТ1 и ГТ2. Основным генотипом ВГЕ, циркулирующим на неэндемичных территориях, включая РФ, является ГТ3. Помимо собственно человека, ВГЕ был выделен от свиней, оленей, мангустов и кроликов. Антитела к вирусу были обнаружены у более широкого спектра животных, включая кошек, собак, кроликов, крупный рогатый скот, овец, коз, лошадей, макак, ослов, крыс и мышей [7]. Имеется множество свидетельств тому, что животные являются резервуаром ВГЕ ГТ3 и ГТ4 и играют значимую роль в поддержании циркуляции вируса. Неоднократно описаны случаи инфицирования людей ГТ3 и ГТ4 ВГЕ после употребления недостаточно термически обработанного мяса диких кабанов и оленей [4, 13]. Более того, было показано, что ВГЕ свиней и кроликов могут преодолевать межвидовой барьер и инфицировать приматов [6]. Более высокая распространенность антител к ВГЕ у работников, вовлеченных в уход за животными, и схожесть геномных

последовательностей ВГЕ, выделенных от людей и свиней в одном регионе, поддерживают предположение о значимой роли зоонозной трансмиссии в распространении ВГЕ-инфекции [8]. Представленные данные позволяют предположить, что вакцинация таких значимых природных резервуаров инфекции, как домашние свиньи и кролики, может прервать пищевой путь передачи и снизить количество случаев заболевания ГЕ у людей.

Инфекция ВГЕ у человека и экспериментальное заражение животных приводит к выработке антител и обеспечивает протективный иммунитет. Опыты с пассивной иммунопрофилактикой и челленджем на макаках показали, что наличие антител к ВГЕ предотвращает формирование ВГЕ-инфекции и развитие гепатита [14]. Более того, имеются эпидемиологические свидетельства того, что лица, ранее инфицированные ВГЕ, защищены от инфекции в ходе вспышек [1]. Было показано, что пост-инфекционные антитела к ВГЕ IgG сохраняются у людей вплоть до 14 лет [2]; после экспериментального заражения шимпанзе ГТ1 и 2 антитела выявлялись в течение 10 лет [3]. Все четыре генотипа ВГЕ объединены одним серотипом, что предположительно обеспечивает возможность создания универсальной вакцины [9].

В настоящее время в мире существует только одна вакцина против ГЕ, основанная на рекомбинантном капсидном белке ВГЕ, полученном в культуре *Escherichia coli*, и лицензированная для применения исключительно в Китае. Принимая во внимание невозможность импорта данной вакцины, а также отсутствие данных о ее эффективности в предотвращении инфицирования ГТ3 ВГЕ, представляется целесообразной разработка вакцины на основе штаммов ГТ3 ВГЕ — генотипа вируса, наиболее широко циркулирующего на территории РФ.

Ранее нами был разработан прототипный вариант вакцины против гепатита Е на основе экспрессии в культуре *E.coli* рекомбинантного капсидного белка ВГЕ, содержащего основные иммуногенные эпитопы. Целью данного исследования являлась оценка специфической иммуногенной активности разработанного прототипного варианта вакцины против гепатита Е.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы следующие материалы: прототипный вариант вакцины против гепатита Е. Доза — 0,5 мл. Содержание антигена ORF2 ВГЕ 20 мкг/доза; раствор алюминия гидроксида (Alhedrogel Brenntag Biosector) с концентрацией 10,45 мг/мл; глутоксим — иммуностимулирующее средство (ЗАО «ФАРМА ВАМ»). Международное непатентованное название: глутамил-цистеинил-глицин динатрия; полиоксидоний — иммуномодулятор широкого спектра действия, являющийся стимулятором антителообразования, разрешен к медицинскому применению в качестве адъюванта в составе вакцин, для которого продемонстрирована способность усиливать иммуногенные свойства разных видов вакцин.

Для оценки специфической иммуногенной активности прототипного варианта препарата «Вакцина против гепатита Е», применяемого в эквивалентной дозе (согласно общим рекомендациям для доклинического испытания препаратов), проводили однократную иммунизацию нелинейных мышей (самцов) массой 17 — 20 г. Оценивали показатели 5 (интактной, 3 опытных с различной дозой вакцины и контрольной) групп (в каждой — по 10 животных). Общее количество мышей, использованных в эксперименте — 170. В ходе эксперимента у животных брали образцы сыворотки крови на 7, 14, 21 и 28 дни после однократной иммунизации и определяли в них наличие анти-ВГЕ.

Для оптимизации условий иммуногенности вакцины 250 мышам, разделенным на 25 групп по 10 голов в каждой, вводили экспериментальные образцы вакцинного препарата, содержащие различные композиции адьювантов. В данном эксперименте у животных брали образцы сыворотки крови на 28 день после однократной иммунизации для определения анти-ВГЕ и расчета средней иммунизирующей дозы (ID_{50}) для каждой композиции вакцинного препарата.

Анти-ВГЕ определяли с помощью набора реагентов «ДС-ИФА-АНТИ-HEV-G» производства НПО «Диагностические системы» (тест-система иммуноферментная для выявления антител к вирусу гепатита E IgG) по протоколу производителя, за исключением конъюгата: вместо входящего в состав набора применяли видоспецифичный конъюгат. В качестве антивидового конъюгата в постановке ИФА использовали антитела козы к IgG мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP) производства Pierce (кат. № PA184388) в разведении 1:10 000 в стерильном фосфатно-солевом буфере. Результаты постановки ИФА учитывали, если все образцы сывороток мышей интактной группы были идентифицированы как отрицательные (значение ОП должно быть ниже значения ОП крит.).

Расчет ID_{50} осуществляли по результатам, полученным в группах мышей, иммунизированных указанными разведениями испытуемых образцов по методу Кербера в соответствии с формулой: $\lg ID_{50} = \lg D_N - \delta (\sum L_i - 0,5) + \lg S$ $ID_{50} = \text{antilg} (-\lg ID_{50})$, где: D_N — минимальное разведение вакцины, используемое в опыте; δ — логарифм отношения каждой последующей дозы к предыдущей, т. е. логарифм кратности испытанных разведений; L_i — отношение числа иммунных животных к числу всех вакцинированных животных конкретными разведениями испытуемой вакцины и стандартным образцом; $\sum L_i$ — сумма всех значений L_i ; S — кратность разведения исследуемых сывороток; ID_{50} — доза вакцины, вызывающая выработку антител у 50 % вакцинированных животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Животных иммунизировали внутрибрюшинно дозами препарата, указанными в табл. 1. На протяжении 4 недель эксперимента у иммунизированных мышей не наблюдали видимых изменений внешнего вида и поведения. Образцы сывороток, полученные индивидуально от каждого животного, тестируют на наличие антител к вирусу гепатита E в течение первых 24 ч после забора образцов крови, используя коммерческую иммуноферментную тест-систему для выявления антител к вирусу гепатита E IgG. На основании выявления анти-ВГЕ в опытных группах были рассчитаны средние значения коэффициента позитивности КП ср. (отношение среднего для группы значе-

Таблица 1. Схема проведения эксперимента по оценке иммуногенности прототипного вакцинного препарата против гепатита E при однократном внутримышечном введении

День эксперимента	Группа 1, n=40	Группа 2, n=40	Группа 3, n=40	Группа 4, n=40	Группа 5, n=10
	Вакцинный препарат, 5 мкг	Вакцинный препарат, 10 мкг	Вакцинный препарат, 20 мкг	Адьювант, алюминия гидроксид, 0,5 мг/мл	Интактные животные
День 0	Иммунизация				Забор крови (n=10)
Дни 7, 14, 21, 28	Забор крови (n=10)	Забор крови (n=10)	Забор крови (n=10)	Забор крови (n=10)	—

ния ОП к ОП крит.). На рис. приведены полученные для каждой группы на 7, 14, 21 и 28 день средние показатели коэффициента позитивности при определении анти-ВГЕ.

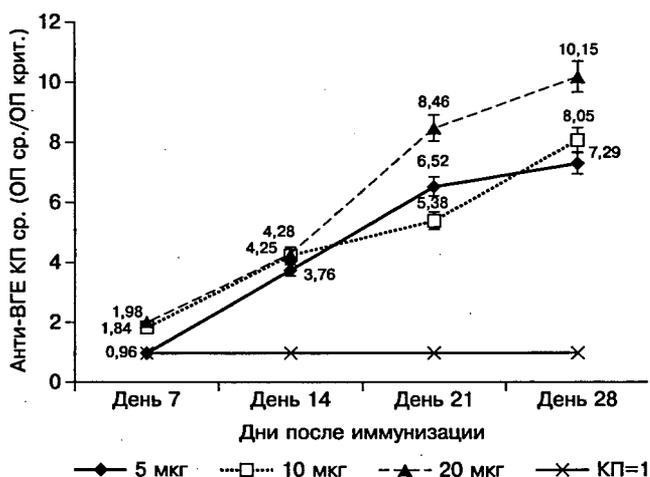
В контрольных группах (интактные и получавшие адьювант мыши) случаи выявления анти-ВГЕ не регистрировались, что указывает на отсутствие неспецифических реакций в эксперименте. Все дозы образца вакцины вызывали при экспериментальной иммунизации мышей выработку анти-ВГЕ. К 28 дню после иммунизации

во всех группах мышей, получавших вакцину, частота выявления анти-ВГЕ составила 100%. Однако в динамике на протяжении эксперимента частота выявления анти-ВГЕ и КП различались между группами иммунизированных животных. Различия, как правило, носили дозозависимый характер. При иммунизации дозой 5 мкг 100% частота выявления анти-ВГЕ происходила только на 28 день, тогда как при дозах 10 и 20 мкг — уже к 21 дню. Величина КП также возрастала с увеличением дозы вакцины в каждой из анализированных временных точек и достигала максимума при дозе 20 мкг.

С целью определения возможности повышения иммуногенности разработанного вакцинного препарата против ГЕ в состав вакцины вводили препараты, обладающие иммуномодулирующим эффектом. Для проведения исследования были выбраны три адьюванта, обладающие разными механизмами действия: 1. алюминия гидроксид, депонирующий антиген, сорбированный на нем, и вызывающий местную воспалительную реакцию, что в конечном итоге приводит к усилению гуморального иммунного ответа; 2. полиоксидоний — иммуномодулятор широкого спектра действия, являющийся стимулятором антителообразования, разрешен к медицинскому применению в качестве адьюванта в составе вакцин, для которого продемонстрирована способность усиливать иммуногенные свойства разных видов вакцин; 3. глутоксим — иммуностимулирующее средство. Данное соединение, помимо иммуномодулирующего действия, способно восстанавливать дисульфидные связи и, по-видимому, способствует восстановлению третичной структуры белков, в том числе конформационных эпитопов антигенов.

Метод контроля эффективности повышения иммуногенности при применении адьювантов основан на определении методом ИФА дозы препарата вакцины (ID_{50}), вызывающей образование антител к ВГЕ у 50 % мышей.

В табл. 2 приведены концентрации адьювантов, использовавшихся для приготовления разведений вакцинных препаратов с дозой антигена, равной 20 мкг. Из испытуемых образцов готовили ряд последовательных двукратных разведений от 1:2 до 1:64. Для разведения использовали плацебо, которое представляет собой раствор соответствующего адьюванта, использованного



Величина коэффициента позитивности при определении анти-ВГЕ. Планки погрешностей отображают величину относительной ошибки.

при приготовлении вакцинного препарата.

Методом случайной выборки сформировали опытные и контрольную группы по 10 животных в каждой. Количество опытных групп соответствовало количеству разведений. Мышам опытных групп внутрибрюшинно вводили по 0,5 мл полученных разведений образцов препаратов, используя одно разведение препарата на одну опытную группу. Мышам контрольной группы

тем же способом вводили плацебо. Через 28 суток животных обескровливали и готовили сыворотку в объеме не менее 0,1 мл. Образцы сывороток, полученные индивидуально от каждого животного, тестировали на наличие антител к вирусу гепатита Е в течение первых 24 часов.

На протяжении 4 недель эксперимента у иммунизированных мышей не наблюдали видимых изменений внешнего вида и поведения. Определение анти-ВГЕ проводили на 28 день после иммунизации в сыворотках крови мышей во всех группах. Результаты определения анти-ВГЕ в образцах сыворотки крови мышей через 28 дней после иммунизации приведены в табл. 3.

На основании выявления анти-ВГЕ в опытных группах были рассчитаны значения L_1 (отношение числа прореагировавших животных к числу всех иммунизированных животных конкретными разведениями препаратов вакцины) и ID_{50} на 28 день после иммунизации (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют о достоверном увеличении иммуногенности вакцины против гепатита Е, определяемой как величина ID_{50} для каждой комбинации вакцины при использовании в качестве адьюванта глутоксима в концентрации 10 мг/мл в растворе алюминия гидроксида (0,5 мг/мл). Увеличение иммуногенности при одной и той же стандартной дозе антигена (20 мкг) составило 51,4%. Для композиции вакцины с полиоксидонием также наблюдали незначительное увеличение иммуногенности. Однако оно не было статистически значимым при сравнении с аналогичным показателем, полученным в группе мышей, иммунизированных вакциной с алюминия гидроксидом в качестве адьюванта.

ОБСУЖДЕНИЕ

Оптимальными антигенами для создания вакцины против ГЕ являются производные ОРС2 ВГЕ, экспрессированные в клетках бактерий, млекопитающих или насекомых. Целый ряд пептидов, кодируемых как полноразмерной последовательностью ОРС2, так и ее фрагментами показал иммуногенность на мышах и приматах, а также эффективность в предотвращении развития инфекции и формирования гепатита после экспериментального заражения, однако при этом во многих случаях наблюдались различия в эффективности вакцин при проведении челленджа тем же генотипом, на основе последовательностей которого была приготовлена вакцина, или другим генотипом ВГЕ. К настоящему моменту только две кандидатные вакцины, осно-

Таблица 2. Состав вакцинных препаратов, использовавшихся для изучения повышения иммуногенности вакцин против гепатита Е

Препарат	Содержание антигена ВГЕ в дозе препарата	Содержание адьюванта в дозе препарата
Прототипный вариант вакцины против гепатита Е, алюминия гидроксид	20 мкг/0,5 мл	Алюминия гидроксид 0,5 мг/мл
Прототипный вариант вакцины против гепатита Е, полиоксидоний	20 мкг/0,5 мл	Алюминия гидроксид 0,5 мг/мл + полиоксидоний 1,0 мг/мл
Прототипный вариант вакцины против гепатита Е, глутоксим	20 мкг/0,5 мл	Алюминия гидроксид 0,5 мг/мл + глутоксим 10 мг/мл

Таблица 3. Результаты определения анти-ВГЕ в образцах сыворотки крови мышей на 28 день после иммунизации различными композициями вакцинного препарата

Группа	№ в группе	Композиция вакцины	Разведение вакцины	Количество прореагировавших животных по отношению к общему числу животных		ΣL ₄	ИД ₅₀
				Абсолютное число	Отношение L ₄		
1	10	ВГЕ PORF2/ 20 мкг/ алюминия гидроксид	цельная	6/10	0,6	1,6	4,26
2	10		1:2	3/10	0,3		
3	10		1:4	3/10	0,3		
4	10		1:8	2/10	0,2		
5	10		1:16	1/10	0,1		
6	10		1:32	1/10	0,1		
7	10		1:64	0/10	0		
8	10	ВГЕ PORF2/ 20 мкг/ алюминия гидроксид+полиоксидоний	цельная	7/10	0,7	1,7	4,57
9	10		1:2	4/10	0,4		
10	10		1:4	3/10	0,3		
11	10		1:8	2/10	0,2		
12	10		1:16	1/10	0,1		
13	10		1:32	0/10	0		
14	10		1:64	0/10	0		
15	10	ВГЕ PORF2/ 20 мкг/ алюминия гидроксид+глутоксим	цельная	7/10	0,7	2,3	6,92
16	9		1:2	3/9	0,3		
17	10		1:4	5/10	0,5		
18	10		1:8	2/10	0,2		
19	10		1:16	2/10	0,2		
20	10		1:32	2/10	0,2		
21	10		1:64	2/10	0,2		
22	10	Плацебо 1 (алюминия гидроксид)	—	0/10	0	0	0
23	10	Плацебо 2 (алюминия гидроксид + глутоксим)	—	0/10	0	0	0
24	10	Плацебо 3 (алюминия гидроксид + глутоксим)	—	0/10	0	0	0
25	10	Интактные	—	0/10	0	0	0

ванные на капсидном белке вируса — экспрессированный с помощью бакуловирусного вектора белок 56 кДа и экспрессированный в культуре *E.coli* пептид HEV 239, дошли до стадии клинических исследований [12, 15]. В 2007 г. M. Shrestha et al. провели исследования рекомбинантной вакцины против гепатита Е в Непале. Эффективность данной вакцины после трехкратной иммунизации по результатам двухлетнего наблюдения составила ≈95% [12], однако в дальнейшем прогресса в разработке этой вакцины не наблюдалось.

Вестерн-блотт с другим рекомбинантным пептидом на основе капсидного белка ВГЕ, trpE-C2, продемонстрировал способность связываться с антителами к ВГЕ у пациентов с предполагаемой ВГЕ-инфекцией из Азии, Африки и Северной Америки, а также у экспериментально зараженных приматов. В дальнейшем было показано, что белок trpE-C2 обладает способностью абсорбировать анти-ВГЕ из сыворотки крови пациентов в конкурентном тесте с флуоресцентными антителами [10]. В небольшом доклиническом исследовании иммуногенности и эффективности вакцины четыре яванских макака были двукратно иммунизированы (0 и 34 сут.) двумя дозами (80 мкг) trpE-C2 с алюминиевыми квасцами в качестве адьюванта; двум животным через две недели после второй иммунизации была введена третья доза безадьювантной

вакцины. У всех четырех животных произошла выработка антител в высоких концентрациях, однако у животных, получивших две дозы вакцины, защиты против инфекции и развития заболевания при гомологическом (бирманский изолят ВГЕ, ГТ1) и негомологическом челлендже (мексиканский изолят ВГЕ, ГТ2) не наблюдалось. Из двух животных, получивших 3 дозы вакцины, у одного наблюдалась полная защита против гомологического челленджа, тогда как у второго животного после гетерологического челленджа наблюдалась защита от развития заболевания, но не от инфекции, что проявлялось присутствием РНК ВГЕ в фекалиях и антигена ВГЕ в печени [11]. Это было первое исследование, в котором была продемонстрирована иммуногенность рекомбинантного белка ОРС2 и его важность в защите от ВГЕ-инфекции.

Исследования другого вакцинного препарата, основанного на фрагменте капсидного белка ВГЕ, рЕ2 с алюминиевыми квасцами в качестве адъюванта, показали низкую иммуногенность у мышей, что сделало препарат неподходящим для дальнейших исследований [5].

В 2010 F.-C. Zhu et al. провели оценку иммунологической и эпидемиологической эффективности рекомбинантной вакцины HEV 239 на более чем 100 000 здоровых взрослых лиц из китайской провинции Цзянсу — региона, эндемичного по ГЕ. После введения третьей дозы вакцины у 100% вакцинированных наблюдалась выработка антител против ВГЕ, при этом у привитых лиц в течение года наблюдения не было зарегистрировано случаев гепатита [15]. В настоящее время данная вакцина одобрена китайской Государственной службой надзора за пищей и лекарствами — организацией, не получившей сертификат ВОЗ для регулирования и надзора за производством вакцин. Таким образом, использование данной вакцины за пределами КНР в настоящее время невозможно [Nelson K. E. et al., 2014].

Проведенные нами исследования на нелинейных мышах продемонстрировали, что отечественный прототипный вариант вакцинного препарата против ГЕ в эквитерапевтической дозе 20 мкг антигена/мл вызывает выработку специфических анти-ВГЕ IgG у 100% иммунизированных животных. Полученные данные свидетельствуют о высокой иммуногенности данного вакцинного препарата. Применение в композиции экспериментального вакцинного препарата иммуномодулятора глутоксима обеспечивало наибольшую иммуногенность вакцины против гепатита Е. При содержании антител ВГЕ в препарате вакцины, равном 20 мкг, концентрация глутоксима 10 мг/мл давала увеличение иммуногенности по сравнению со стандартной композицией вакцины с той же дозой АГ ВГЕ на 51,4% на 28 день после однократной иммунизации.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения протективных свойств данного прототипного препарата на восприимчивых к ВГЕ животных — домашних свиньях и приматах.

Проект осуществлен при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60414X0064.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bryan J.P. et al. Epidemic hepatitis E in Pakistan: Patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. J. Infect. Dis. 1994, 170 (3): 517-521.
2. Khuroo M.S., Kamili S., Dar M.Y. Hepatitis E and long-term antibody status. Lancet. 1993, 341 (8856): 1355.

3. Krawczynski K., Meng X.-J., Rybczynska J. Pathogenetic elements of hepatitis E and animal models of HEV infection. *Virus Res.* 2011, 161 (1): 78–83.
4. Li T.-C. et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, 11 (12): 1958-1960.
5. Li S.W. et al. A bacterially expressed particulate hepatitis E vaccine: antigenicity, immunogenicity and protectivity on primates. *Vaccine.* 2005, 23 (22): 2893-2901.
6. Liu P. et al. Transmission of hepatitis E virus from rabbits to cynomolgus macaques. *Emerg. Infect. Dis.* 2013, 19 (4): 559-565.
7. Meng X.J. Recent advances in Hepatitis E virus. *J. Viral Hepat.* 2010b, 17 (3): 153-161.
8. Meng X.J. Hepatitis E virus: animal reservoirs and zoonotic risk. *Vet. Microbiol.* 2010a, 140 (3-4): 256-265.
9. Meng X.J. et al. Hepeviridae. *In: Virus taxonomy: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* A.M.. King et al. (ed.). London: Elsevier Inc., 2012, 9: 1021-1028.
10. Purdy M.A. et al. Expression of a hepatitis E virus (HEV)-trpE fusion protein containing epitopes recognized by antibodies in sera from human cases and experimentally infected primates. *Arch. Virol.* 1992, 123 (3-4): 335-349.
11. Purdy M.A. et al. Preliminary evidence that atrpE-HEV fusion protein protects cynomolgus macaques against challenge with wild-type hepatitis e virus (HEV). *J. Med. Virol.* 1993, 41 (1): 90-94.
12. Shrestha M.P. et al. Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *New Engl. J. Med.* 2007, 356 (9): 895–903.
13. Tei S. et al. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet.* 2003, 362 (9381): 371-373.
14. Tsarev S.A. et al. Successful passive and active immunization of cynomolgus monkeys against hepatitis E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994, 91 (21): 10198-10202.
15. Zhu F.-C. et al. Efficacy and safety of a recombinant hepatitis E vaccine in healthy adults: a large-scale, randomised, double-blind placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet.* 2010, 376 (9744): 895-902.

Поступила 19.12.16

Контактная информация: Гуляев Станислав Анатольевич,
142782, Москва, поселение Московский, поселок Института полиомиелита,
27 км Киевского шоссе, р.т. (495)841-90-07

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*Н.В.Соболева¹, А.А.Карлсен^{2,3}, О.В.Исаева^{2,3},
К.К.Кюрегян^{2,3}, О.Е.Троценко⁴, М.И.Михайлов^{2,3}*

ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С В ХАБАРОВСКОМ КРАЕ

¹Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П.Чумакова, ²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, ³НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва; ⁴Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии

Цель. Изучить интенсивность циркуляции ВГС на территории Хабаровского края и генетические варианты вируса, циркулирующие в регионе. *Материалы и методы.* Исследованы 940 образцов сыворотки крови, полученных от лиц с неустановленными факторами риска инфицирования ВГС в поликлинике Дальневосточного окружного Центра по профилактике и борьбе со СПИД (Хабаровск). В исследование были включены лица следующих возрастных групп: 1 — 4 лет, 5 — 9 лет, 10 — 14 лет, 15 — 19 лет, 20 — 29 лет, 30 — 39 лет, 40 — 49 лет, 50 — 59 лет, старше 60 лет; каждая группа включала около 100 человек. Во всех образцах определяли анти-ВГС, в положительных по анти-ВГС — определяли РНК ВГС. Для реконструкции истории распространения ВГС в Хабаровском крае был проведен филогенетический анализ с временной шкалой для выявленных геновариантов ВГС. Деревья были построены с помощью пакета программ BEAST v1.8.2 по двум