



Влияние углеводных адъювантов в составе экспериментального хантавирусного вакцинного препарата на динамику нейтрализующих антител в сыворотках крови морских свинок

Курашова С.С.^{1✉}, Егорова М.С.¹, Ветрова А.Н.¹, Баловнева М.В.¹, Попова Ю.В.¹,
Теодорович Р.Д.¹, Мироненко А.А.², Апарин П.Г.², Львов В.Л.²,
Ткаченко Е.А.¹, Дзагурова Т.К.¹

¹Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия;

²Государственный научный центр «Институт иммунологии», Москва, Россия

Аннотация

Введение. Вакцинация могла бы стать наиболее эффективным способом контроля геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), которая занимает ведущее место среди зоонозов и одно из первых мест среди природно-очаговых заболеваний человека. В связи с этим актуальны разработка эффективного вакцинного препарата, а также поиск новых нетоксичных и эффективных адъювантов, которые могут способствовать усилению и пролонгированию иммунного ответа, снижению концентрации антигена и уменьшению кратности введения препаратов.

Цель исследования — определить зависимость иммуногенной активности экспериментального хантавирусного препарата на основе вируса Пуумала (ХП) от дозы антигена как в нативном виде, так и в сочетании с углеводными адъювантами.

Материалы и методы. Исследован иммуноадъювантный эффект Ас3-ЛПС *Shigella sonnei* и *S. flexneri* 1В и эмульсии наноэмульгированного сквалена Sepivac SWE (SWE) в составе ХП в оптимальной и минимальной дозах по индукции нейтрализующих антител после 3-кратной иммунизации (0, 14, 182-й день) морских свинок (*Cavia porcellus*). Различия в иммуногенной активности ХП оценивали в реакции нейтрализации по 50% подавлению фокусобразующих единиц в культуре клеток Vero E6.

Результаты. Статистически значимое повышение уровня нейтрализующих антител отмечали уже после 1 иммунизации как для ХП в оптимальной дозе, так и для его комбинации с адъювантами. Наиболее выраженный иммуноадъювантный эффект проявили Ас3-ЛПС *S. sonnei* и SWE, в концентрации 50 и 100 мкг/дозу соответственно. Иммуноадъювантный эффект, обусловленный комбинацией ХП с Ас3-ЛПС *S. sonnei* и SWE, способствовал как усилению иммунного ответа, так и его продолжительности. Уменьшение дозы антигена в 10 раз в присутствии SWE позволяет оптимизировать иммунный ответ для вакцинного препарата.

Вывод. Результаты исследования показали перспективность использования Ас3-ЛПС *S. sonnei* и Sepivac SWE в вакцине для профилактики ГЛПС.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, вирус Пуумала, хантавирусный вакцинный препарат, адъюванты, схема введения, нейтрализующие антитела, иммунный ответ

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 ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (протокол № 100622-5 от 10.06.2022).

Благодарность. Выражаем благодарность к.х.н. Л. Каримовой, директору по развитию бизнеса в России и странах СНГ компании «Serpic», за предоставление адъюванта Sepivac SWE для исследований.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования. Работа выполнена в рамках Госзадания № 122041800054-7, на базе Федерального научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита).

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

Для цитирования: Курашова С.С., Егорова М.С., Ветрова А.Н., Баловнева М.В., Попова Ю.В., Теодорович Р.Д., Мироненко А.А., Апарин П.Г., Львов В.Л., Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К. Влияние углеводных адъювантов в составе экспериментального хантавирусного вакцинного препарата на динамику нейтрализующих антител в сыворотках крови морских свинок. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(3):383–392. DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-523>
EDN: <https://www.elibrary.ru/kjcoua>

Original Study Article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-523>

The effect of carbohydrate adjuvants in the composition of the experimental hantavirus vaccine on the dynamics of neutralizing antibodies in the blood sera of guinea pigs

Svetlana S. Kurashova^{1✉}, Maria S. Egorova¹, Anna N. Vetrova¹, Maria V. Balovneva¹, Yulia V. Popova¹, Rostislav D. Teodorovich¹, Anna A. Mironenko², Peter G. Aparin², Vyatcheslav L. Lvov², Evgeniy A. Tkachenko¹, Tamara K. Dzagurova¹

¹M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs (Polio Institute), Moscow, Russia;

²National Research Center Institute of Immunology, Moscow, Russia

Abstract

Introduction. Vaccination could be the most effective means of preventing hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), which is one of the leading zoonoses and a major cause of natural disease in humans. Therefore, research to develop an effective vaccine and the search for new non-toxic and effective adjuvants that can enhance and prolong the immune response, reduce the antigen concentration and reduce the frequency of dose administration is an urgent task.

The aim of the study was to determine the dependence of the immunogenic activity of an experimental hantavirus vaccine based on Puumala virus (HV) on the antigen dose both in native form and in combination with carbohydrate adjuvants.

Materials and methods. The immunoadjuvant effect of Ac3-LPS *S. sonnei* and *S. flexneri 1B* and emulsions of nanoemulsified squalene Sepivac SWE (SWE) as part of HV at the optimal and minimal doses was investigated by induction of neutralising antibodies after 3-fold immunisation (day 0, 14, 182) of guinea pigs (*Cavia porcellus*). Differences in the immunogenic activity of HV were assessed in the neutralisation reaction by 50% suppression of focal units in Vero E6 cell cultures.

Results. A statistically significant increase in neutralising antibodies levels was observed after immunization both with HV at the optimal dose and for its combination with adjuvants. Ac3-LPS *S. sonnei* and SWE showed the most pronounced immunoadjuvant effect at concentrations of 50 and 100 µg/dose, respectively. The immunoadjuvant effect of the combination of the hantavirus vaccine with Ac3-LPS *S. sonnei* and SWE contributed to both an enhanced immune response and its duration. The tenfold reduction of the antigen dose in the presence of SWE allows optimization of the immune response to the vaccine.

Conclusion. The results of this study show the prospects of using Ac3-LPS *S. sonnei* and Sepivac SWE in the vaccine for the prevention of HFRS.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, Puumala virus, hantavirus vaccine, adjuvants, administration scheme, neutralizing antibodies, immune response.

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 the M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs (Polio Institute) (protocol No. 100622-5, June 10, 2022).

Acknowledgement. We express our gratitude to L. Karimova, Cand. Sci. (Chem.), Director of business development in Russia and the CIS countries of Seppic, for providing the Sepivac SWE adjuvant for research.

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: Kurashova S.S., Egorova M.S., Vetrova A.N., Balovneva M.V., Popova Yu.V., Teodorovich R.D., Mironenko A.A., Aparin P.G., Lvov V.L., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K. The effect of carbohydrate adjuvants in the composition of the experimental hantavirus vaccine on the dynamics of neutralizing antibodies in the blood sera of guinea pigs. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(3):383–392.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-523>

EDN: <https://www.elibrary.ru/kjcoua>

Введение

Основную роль в структуре заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) играет вирус Пуумала, на долю которого приходится 97,7% случаев заболеваний ГЛПС в России, а на долю вирусов Хантаан, Сеул, Амур и двух подтипов (Куркино и Сочи) вируса Добrava/Белград — менее 3% [1]. Такая эпидемиологическая обстановка на территории России представляет собой серьёзную угрозу населению. Ввиду отсутствия этиотропного лечения ГЛПС актуальна разработка вакцинного препарата для её профилактики [2].

Этап лицензирования прошли 6 хантавирусных вакцин: 3 культуральных и одна мозговая в Китае и по одной мозговой вакцине в КНДР и Южной Корее, которые производятся на основе хантавирусов Хантаан или Сеул. Ни одна из этих вакцин не может применяться в европейских регионах России, поскольку не обладает защитным действием против вируса Пуумала — основного возбудителя ГЛПС на этой территории [3]. В России разработка технологии изготовления инактивированных формалином или бета-пропиолактоном цельновирионных вакцинных препаратов на перевиваемой линии клеток Vero началась в 1990 г., когда удалось оптимизировать получение высокотитражного урожая вируса Пуумала [4]. Успешно прошли доклинические исследования 3 кандидатных вакцинных препарата: моновакцина с использованием вируса Пуумала «PUUVAX» в 1990 г. [4], двухкомпонентная вакцина «Комби-ГЛПС-Вак» на основе вирусов Пуумала и Добrava/Белград (подтип Куркино) в 2008 г. [5], трёхкомпонентная вакцина «ГЛПС-Вак» на основе вирусов Пуумала, Добrava/Белград (подтип Сочи) и Хантаан в 2018 г. [6].

Иммуногенную активность и протективность инактивированных цельновирионных вакцинных препаратов для профилактики различных инфекций можно повысить с помощью адъювантов, которые способствуют пролонгированию иммунного ответа, снижению концентрации антигена и уменьшению кратности введения препаратов, обеспечивая рациональное соотношение доза–ответ [7, 8]. Вакцинный препарат для профилактики ГЛПС не является исключением. Ранее в рамках доклинических исследований мы оценивали возможное влияние различных групп адъювантов на повышение иммуногенной активности моновалентного и поливалентного вакцинных препаратов для профилактики ГЛПС в ответ на их введение мышам BALB/c [9]. Установлены наибольшая эффективность и целесообразность применения группы углеводных адъювантов на примере низкоэндоксичного апирогенного липополисахарида (ЛПС), содержащего триацильные производные липида А — Ac3-ЛПС *Shigella sonnei*, в вакцинном препарате для профилактики ГЛПС [10]. Также на мышах линии BALB/c и мор-

ских свинках были установлены оптимальная и минимальная иммунизирующие дозы хантавирусного вакцинного препарата (ХП) [9, 11]. Для решения вопроса о влиянии адъювантов на силу и длительность иммунного ответа в данном исследовании в качестве модели экспериментальных животных были выбраны морские свинки *Cavia porcellus*.

Адъюванты характеризуются большим разнообразием, поэтому подбор осуществляется путём сравнения их эффективности на моделях животных, а также оценки их безопасности и переносимости [12]. Они способны усиливать формирование иммунного ответа, генерируя долговременную Т- и В-клеточную память [13], определять конкретный тип иммунного ответа, который может быть смещён в сторону ответов цитотоксических Т-клеток, определённых классов Т-хелперов и изотипов антител [14]. Врождённая иммунная система может распознавать патогены напрямую через различные образ-распознающие рецепторы, среди которых наиболее важными являются Toll-подобные рецепторы (TLR) [15, 16]. Они экспрессируются на дендритных, эндотелиальных и тучных клетках, макрофагах, нейтрофилах и т. д. и обладают широкой специфичностью в отношении консервативных молекулярных паттернов патогенов [17]. Традиционно применяемые адъюванты на основе алюминия и MF59 малоэффективны и не оказывают заметного воздействия на клеточный иммунный ответ [18]. В последнее время особое внимание стали уделять адъювантам на основе углеводов [12], которые безопасны, биосовместимы и способны стимулировать сильные и длительные гуморальные и клеточные иммунные реакции [19] через TLR [20, 21], нуклеотид-связывающие домены олигомеризации, содержащие белок 2 [22], С-типа лектины [23] или CD1d-зависимые естественные киллеры [24], которые впоследствии стимулируют продукцию цитокинов [25]. Было показано, что монофосфорилид А, являясь нетоксичным компонентом ЛПС [26] и вместе с тем единственным агонистом TLR4 [27], одобрен в качестве адъюванта в вакцинах для лечения рака, аллергии и инфекционных болезней [28]. Другой углеводный адъювант — глюкопиранозиллипид А — в доклинических исследованиях индуцировал выработку цитокинов в составе вакцинных препаратов за счёт стимуляции иммунных клеток [29]. Углеводные адъюванты растительного происхождения могут осуществлять доставку антигена к антигенпрезентирующим клеткам [30], являясь агонистами TLR4 [27] или усилителями иммунного ответа [31]. Эти сигнальные каскады в конечном итоге генерируют антигенспецифические Т- и В-клеточные реакции, которые алюминий не может индуцировать [32], что сделало их пригодными для разработки вакцинных препаратов, в том числе против вирусов ветряной оспы, иммунодефицита человека, папилломы человека и гепатита В [33].

Безопасность и клиническая применимость Ас3-ЛПС как класса молекул показана в клинических исследованиях кандидатной дизентерийной вакцины против *Shigella flexneri* «Флексвак» на основе Ас3-ЛПС *S. flexneri* 2a [34]. В исследованиях иммуногенной активности вакцины против гриппа H7N9 добавление адьюванта Sepivac SWE (SWE; эмульсия сквалена в воде) усиливало функциональные реакции антител у хорьков, а также позволяло снижать дозу антигена по меньшей мере в 6 раз [35]. В составе белковых субъединичных вакцин против COVID-19 адьювант SWE на модели мышей BALB/c позволял сократить количество доз, способствовал увеличению количества нейтрализующих антител (нАТ) и индуцировал сбалансированные иммунные ответы Th1/Th2 по сравнению с гидроксидом алюминия [36]. SWE-адьювантная вакцина против COVID-19 COVAC-2 вышла на клинические испытания NCT04702178¹ и NCT05209009².

Целью данного исследования являлось определение эффективности углеводных адьювантов различного происхождения в составе экспериментального ХП на основе вируса Пуумала на модели морских свинок.

Материалы и методы

Использовали культуры клеток Vero (ATCC CCL-81) — перевиваемая культура клеток почки зелёной марышки, Vero-E6 (ATCCNo. CRL-1586) — клон Vero C1008 культуры VERO.

Вирус Пуумала, штамм PUU-TKD-VERO, депонирован в Государственной коллекции вирусов (Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ) под номером № 1026. Полногеномные сиквенсы штамма PUU-TKD-VERO зарегистрированы в GenBank под номерами: S — MN251331, M — MN251332, L — MN251333.

Для выявления и титрования хантавирусов в культуре клеток Vero E6 применяли метод фокус-образующих единиц (ФОЕ) [37]. Вируснейтрализующие антитела (нАТ) выявляли по подавлению ФОЕ в культуре клеток Vero E6 в реакции нейтрализации [38]. За титр нАТ принимали разведение сыворотки, подавляющее 50% ФОЕ (РН/ФОЕ₅₀), выявленных в контрольном образце вируса. Каждая проба сыворотки крови трижды исследована в РН/ФОЕ₅₀.

Получение экспериментального хантавирусного препарата

Для исследований сравнительной эффективности адьювантов готовили полуфабрикаты ХП,

используя вирус Пуумала [6, 38]. После хроматографической очистки первичного концентрата вируса Пуумала на мультимодальном сорбенте «Capto Core 700» («GE Healthcare») титр вируса до инаktivации составлял $5,0 \pm 0,4$ lg ФОЕ/мл, $2,32 \times 10^6 \pm 98$ копий вирусной РНК/мл, общий белок 30 ± 6 мкг/мл. Выделение РНК и определение количества копий РНК/мл методом ПЦР в реальном времени описаны ранее [39]. Этап инаktivации проводили бета-пропиолактоном в конечном разведении 1 : 6000 при комнатной температуре в течение 1 ч на мешалке [40]. Оптимальной дозе ХП соответствовало содержание вируса $4,5 \pm 0,3$ lg ФОЕ/мл ($1 \times 10^4 \pm 98$ копий вирусной РНК/мл) и общего белка 20 ± 6 мкг/мл, а за минимальную дозу принимали ХП, разведённый физиологическим раствором в 10 раз [9].

Инаktivированный препарат хранили при температуре $6 \pm 2^\circ\text{C}$. Остаточную инфекционность ХП определяли по описанной методике [40]. При отсутствии инфекционности после 5 последовательных пассажей в культуре клеток Vero приступали к контролю иммуногенной активности экспериментальных вакцинных препаратов.

Эксперименты с использованием инфекционных материалов проводили в лаборатории, оборудованной специальным блоком для работы с вирусами 2-й группы патогенности, на работу с которыми имеется разрешение Роспотребнадзора.

Адьюванты

Варианты низкоэндогенных ЛПС рода *Shigella* для исследования влияния на иммуногенную активность в составе ХП, полученные в ГНЦ «Институт иммунологии» [11, 34]:

1) низкоэндогенный апиригенный ЛПС, содержащий гомогенные длинные О-полисахаридные домены Ас3-ЛПС *S. sonnei* (ЛПСГ-*S. sonnei*, 50 мкг/дозу);

2) низкоэндогенный апиригенный ЛПС, содержащий смесь коротких и длинных О-полисахаридных доменов Ас3-ЛПС *S. sonnei* (ЛПС-*S. sonnei*, 50 мкг/дозу);

3) гомогенный низкоэндогенный апиригенный ЛПС, содержащий гомогенные длинные О-полисахаридные домены Ас3-ЛПС *S. flexneri* 1В (ЛПС-*S. flexneri*, 50 мкг/дозу).

Эмульсия наноэмульгированного сквалена животного происхождения по типу «масло в воде» (аналог MF-59) SEPIVAC SWE (SWE, в концентрации 100 мкг/дозу³) была безвозмездно передана компанией «Seppic» для проведения данных исследований.

¹ A Clinical trial of COVAC-2 in healthy adults.
URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04702178>

² A Clinical trial of COVAC-2 in adults.
URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT05209009>

³ SEPIVAC SWE.
URL: <https://www.seppic.com/en/sepivac-swe-pharma>

Иммунизация животных

Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены рандомизированно на группы. Исследования выполняли на самках аутбредных морских свинок Hartley массой 290–330 г ($n = 6$), поставляемых филиалом «Андреевка» Научного центра биомедицинских технологий. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986), и правилами лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19.06.2003 № 267). Одобрение исследования подтверждается выпиской из протокола этического комитета ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита) от 10.06.2022 № 100622-5.

К ХП с оптимальной и минимальной концентрациями антигена добавляли адьюванты. Животным контрольных групп вводили физиологический раствор в том же объеме и с соответствующей концентрацией адьюванта, что и экспериментальным.

Животных экспериментальных групп (ХП, ХП-ЛПСГ-*S. sonnei*, ХП-ЛПС-*S. sonnei*, ХП-ЛПС-*S. flexneri*, ХП-SWE) иммунизировали антигеном в оптимальной или сниженной в 10 раз концентрации.

Животным опытных групп вводили исследуемый препарат в дозе 0,3 мл трёхкратно внутримышечно (0, 14, 182 дня). Проведены 3 серии экспериментов в идентичных дозах. Забор крови у морских свинок проводили каждые 14 дней от начала эксперимента пункцией сердца в течение года.

Сыворотки крови морских свинок прогревали при 56°C в течение 30 мин и хранили до исследования при $6 \pm 2^\circ\text{C}$.

Статистический анализ

Минимальный объем выборки рассчитывали при помощи базовой функции *power.t.test* для уровня статистической значимости не менее 95%. Результаты экспериментов (совокупные данные 3 независимых опытов) были проанализированы, сгенерированы и графически представлены в программном обеспечении «GraphPad Prism v. 9.4.0». Уровень значимости различий между несколькими группами определяли с использованием непараметрического метода трёхстороннего дисперсионного анализа ANOVA с тестом множественного сравнения Тьюки. Иммуногенную активность выражали в виде среднегеометрических значений титра нАТ в двоичных логарифмах \pm стандартное отклонение. Статистически значимыми принимали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

Титры антител у животных до начала иммунизации во всех группах были отрицательными, а в группах отрицательного контроля оставались отрицательными (титры нАТ ≤ 4) в течение всего эксперимента. Средние геометрические титры нАТ, вырабатываемых в ответ на различные комбинации вакцины против Пуумала с адьювантами и без, приведены на рис. 1–4. Группами сравнения являлись ХП и ХП-1/10. Сравнение титров нАТ проводили между ними и другими группами, иммунизированными ХП с добавлением различных адьювантов в соответствующий день отбора сыворотки крови. В экспериментальных группах нАТ определялись через 14 дней после 1-й иммунизации у всех животных. Анализ динамики нарастания титра нАТ в сыворотках крови морских свинок в экспериментальных группах продемонстрировал существенные различия. Первичный ответ выражался в повышении уровня нАТ в сыворотках крови уже после

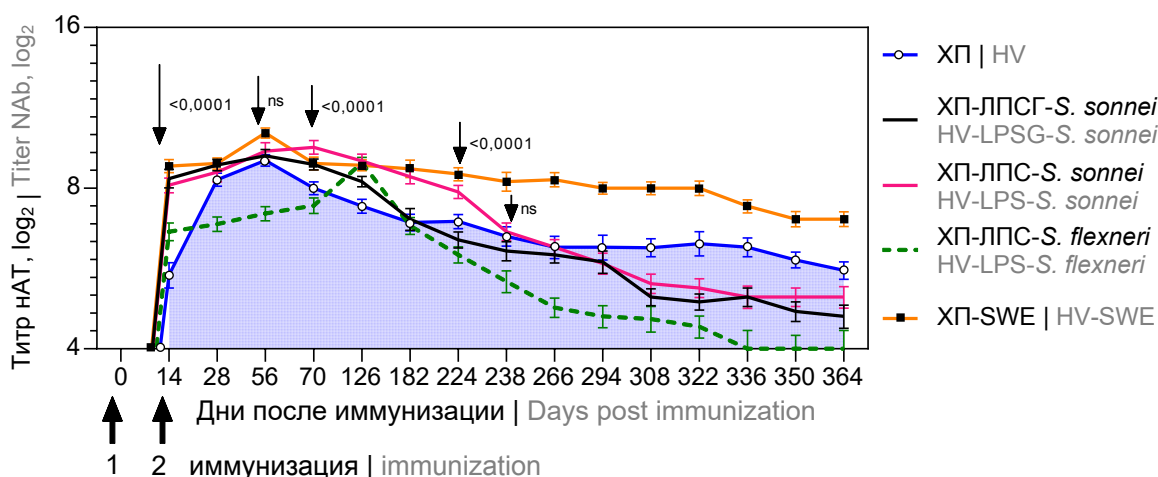


Рис. 1. Кинетика титра нАТ в сыворотках крови морских свинок в ответ на двукратное введение ХП в оптимальной дозе.

Fig. 1. Kinetics of neutralizing antibody titers in guinea pig blood sera in response to two doses of HV administered at optimal dosage.

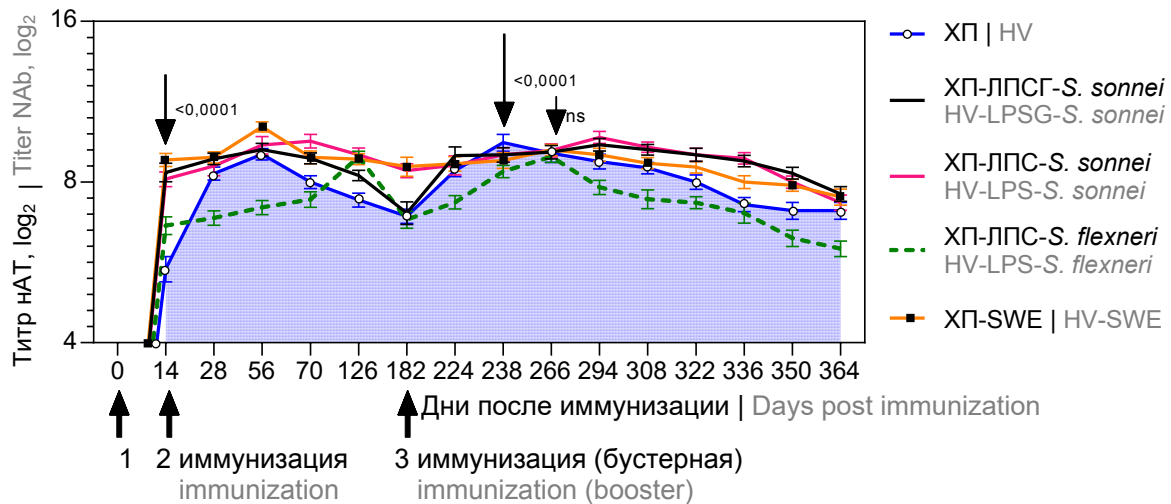


Рис. 2. Кинетика титра нАТ в сыворотках крови морских свинок в ответ на трёхкратное введение ХП.

Fig. 2. Kinetics of neutralizing antibody titers in guinea pig blood sera in response to three doses of the HV.

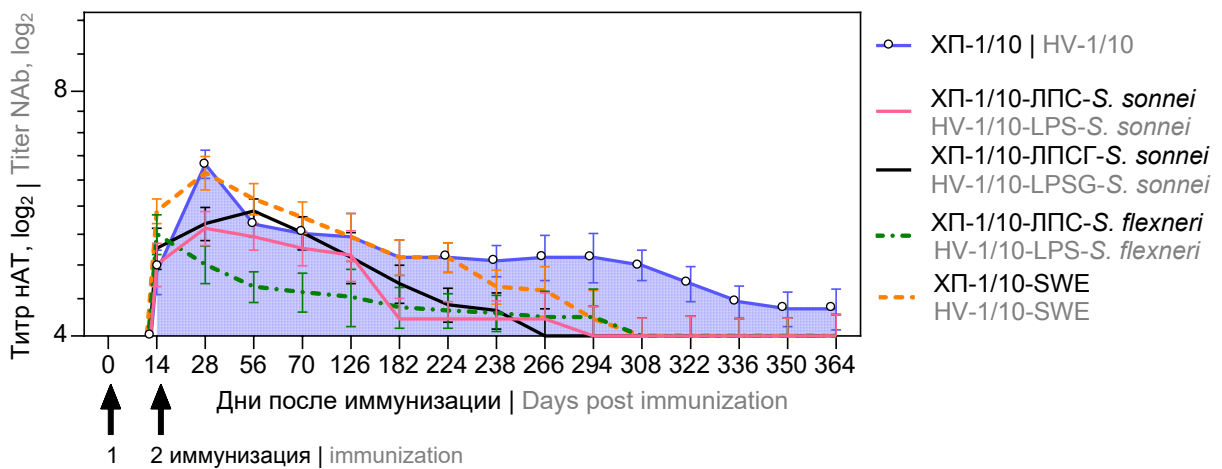


Рис. 3. Кинетика титра нАТ в сыворотках крови морских свинок в ответ на двукратное введение минимальной дозы антигена в ХП.

Fig. 3. Kinetics of neutralizing antibody titers in guinea pig blood sera in response to two doses of HV administered at minimal dosage.

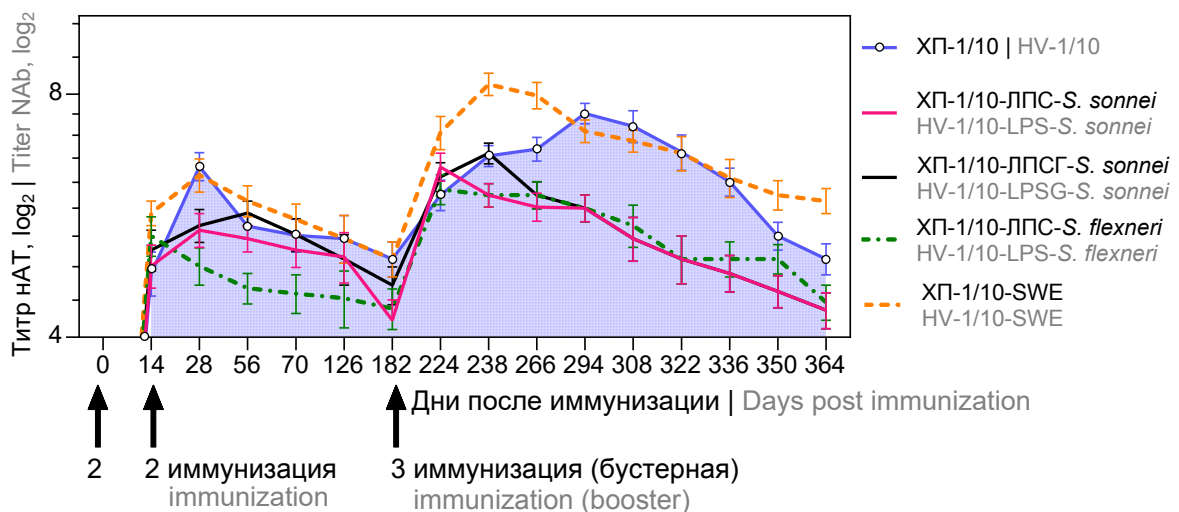


Рис. 4. Кинетика титра нАТ в сыворотках крови морских свинок в ответ на бустерное введение минимальной дозы иммуногена в составе ХП.

Fig. 4. Kinetics of neutralizing antibody titers in guinea pig blood sera in response to booster administration of HV at a minimal dose.

1-й иммунизации во всех группах по сравнению с контролем. Пиковые значения для разных групп наблюдали в разные дни: на 56-й день — для ХП ($9,0 \pm 0,2 \log_2$), ХП-ЛПС-*S. sonnei* ($9,2 \pm 0,25 \log_2$), ХП-SWE ($10,15 \pm 0,22 \log_2$), на 70-й день — ХП-ЛПСГ-*S. sonnei* ($9,54 \pm 0,28 \log_2$), на 126-й день — ХП-ЛПС-*S. flexneri* ($8,92 \pm 0,22 \log_2$).

Для ХП-ЛПСГ-*S. sonnei* и ХП-ЛПС-*S. sonnei* наблюдали плавное снижение титров нАТ ниже такового для ХП. К 364-му дню титр нАТ составлял $4,6 \pm 0,2$; $5,00 \pm 0,23$ и $5,6 \pm 0,21 \log_2$ соответственно. В группе ХП-ЛПС-*S. flexneri* наблюдали более стремительное снижение титров нАТ, достигшее порога отсечения на 336-й день. В присутствии SWE наблюдали крайне медленное снижение титров нАТ. На 364-й день титр нАТ оставался на уровне $7,0 \pm 0,2 \log_2$. В сыворотках крови всех экспериментальных морских свинок к 364-му дню после двукратной иммунизации сохранялись нАТ.

На фоне снижения нАТ в сыворотках крови морских свинок бустерное введение препарата на 182-й день от начала иммунизации приводило к формированию аналогичного профиля нАТ для всех исследуемых групп (рис. 2). Нарастание до пиковых значений наблюдали: к 238-му дню для ХП ($9,48 \pm 0,3 \log_2$), на 266-й день — ХП-ЛПС-*S. flexneri* ($8,92 \pm 0,2 \log_2$) и ХП-SWE ($9,19 \pm 0,22 \log_2$), на 294-й день — ХП-ЛПСГ-*S. sonnei* ($9,4 \pm 0,25 \log_2$) и ХП-ЛПС-*S. sonnei* ($9,7 \pm 0,25 \log_2$), с последующим плавным снижением.

При этом уменьшение концентрации иммуногена в ХП в 10 раз индуцировало аналогичную динамику нарастания титра нАТ пропорционально вводимой дозе, но иммуномодулирующая эффективность адьювантов в таких условиях также была различна (рис. 3). Пиковые значения для разных групп наблюдали в разные дни: на 14-й день — для ХП-1/10-ЛПС-*S. flexneri* ($5,34 \pm 0,3 \log_2$), на 28-й — ХП-1/10 ($6,50 \pm 0,26 \log_2$), ХП-1/10-ЛПС-*S. sonnei* ($5,43 \pm 0,26 \log_2$) и ХП-1/10-SWE ($6,35 \pm 0,30 \log_2$), на 56-й — ХП-1/10-ЛПСГ-*S. sonnei* ($5,7 \pm 0,2 \log_2$). Снижение уровня нАТ в сыворотках крови ниже порога отсечения наблюдали на 266-й день для ХП-1/10-ЛПСГ-*S. sonnei* ($4,00 \pm 0,2 \log_2$), на 294-й — ХП-1/10-ЛПС-*S. sonnei* ($4,0 \pm 0,2 \log_2$), на 308-й — ХП-1/10-ЛПС-*S. flexneri* ($4,0 \pm 0,2 \log_2$) и ХП-1/10-SWE ($4,0 \pm 0,2 \log_2$), на 364-й — ХП ($4,32 \pm 0,25 \log_2$).

Бустерная иммунизация этими же препаратами через 182 дня приводила к пиковым значениям нАТ в сыворотках крови морских свинок: на 224-й день для ХП-1/10-ЛПС-*S. sonnei* ($6,50 \pm 0,26 \log_2$) и ХП-1/10-ЛПС-*S. flexneri* ($6,1 \pm 0,3 \log_2$), на 238-й — ХП-1/10-ЛПСГ-*S. sonnei* ($6,76 \pm 0,2 \log_2$), на 294-й — ХП-1/10 ($7,57 \pm 0,20 \log_2$) и ХП-1/10-SWE ($8,23 \pm 0,26 \log_2$) (рис. 4). После максимальных значений титра нАТ наблюдали их плавное снижение к 364-му дню (выше порога отсечения).

Обсуждение

Впервые рассмотрена эффективность адьювантов в составе экспериментального ХП на основе вируса Пуумала на морских свинках, которые часто используются в качестве модели для ряда инфекционных заболеваний человека из-за сходства индукции иммунного ответа [40].

Анализ динамики продуцирования нАТ в экспериментальных группах показал существенное различие степени их иммуногенной активности в зависимости от комбинации ХП с адьювантом. Подобные результаты мы наблюдали в наших предыдущих экспериментах на модели BALB/c, когда была установлена индукция гуморального и клеточного иммунного ответа для нативного ХП и его комбинации с адьювантами различного происхождения [9]. Однако модель морских свинок позволила подтвердить формирование иммунологической памяти и выявить существенные различия в нарастании титров нАТ для разных экспериментальных групп, несмотря на одинаковую схему иммунизации. В целом наблюдалась схожая динамика титров нАТ после иммунизации ХП как в оптимальной, так и в сниженной в 10 раз концентрации антигена [11]. Выраженный для обоих вариантов бустерный эффект характеризовался более высоким уровнем нАТ в сыворотках крови экспериментальных животных, что подтверждает эффективность иммунизации и позволяет судить о возможности применения сниженной дозы антигена для определённых групп граждан [11]. Стоит отметить, что в данном исследовании важным критерием эффективной иммунизации было определение влияния бустерной иммунизации ХП в комбинации с углеводными адьювантами через 182 дня после 1-й иммунизации, особенно для минимальных доз иммуногена, что может значительно увеличивать доступность вакцины в условиях эпидемиологических вспышек.

Для низкоэндогенного апириногенного ЛПС рода *Shigella*, использованного в качестве адьюванта, наблюдали различную картину в динамике нарастания нАТ. ХП-ЛПСГ-*S. sonnei* и ХП-ЛПС-*S. sonnei* в концентрациях 50 мкг/дозу индуцировали ранний гуморальный иммунный ответ, с формированием «плато» нАТ с высоким титром с 14-го по 126-й день после 1-й иммунизации. Для ХП-ЛПСГ-*S. sonnei* отмечалось значительное пролонгирование индукции нАТ до 224-го дня с менее выраженным подъёмом после бустерного введения на 294-й день, как и для ХП-ЛПС-*S. sonnei*. Такой эффект можно связать с избыточной стимуляцией иммунной системы и для уменьшения подобного воздействия целесообразно увеличить интервал для бустерной иммунизации до 1 года либо снизить концентрацию антигена в вакцинном препарате. Таким образом, иммуноадьювантный эффект ЛПСГ-*S. sonnei* заключается в пролонгировании гу-

морального иммунного ответа, что позволит увеличить интервалы в схеме иммунизации. Безусловно, низкоэндогенные апиригенные Ас3-ЛПС являются многообещающими адъювантами с подтвержденным в клинических исследованиях отсутствием стимуляции продукции провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли- α , интерлекинов-1 β и -6), системных и местных эндогенных побочных реакций при парентеральном введении добровольцам в дозе 50 мкг [34]. Данные нашего исследования показали существенный подъем титра нАТ в ответ на бустерную иммунизацию препаратом, содержащим в 10 раз меньше антигена в комбинации с тремя ЛПС, однако титр нАТ не поднимался в сыворотках крови морских свинок статистически значимо выше, чем при введении ХП-1/10. Таким образом, наиболее выраженный иммуноадъювантный эффект ЛПС заключался в пролонгировании индукции нАТ при оптимальной дозе антигена.

Менее выраженный иммунный ответ ХП-ЛПС-*S. flexneri* в концентрации 50 мкг/дозу выражался в более отдаленном формировании пика нАТ (к 126-му дню) в сравнении с ХП (на 56-й день). Для ХП-ЛПС-*S. flexneri* первичный ответ выражался в более значительном повышении уровня нАТ в сыворотке крови морских свинок по сравнению с нативным ХП после первой иммунизации. Бустерное введение препарата приводило к повышению уровня нАТ с формированием повторного пика на 266-й день.

Для SWE в концентрации 100 мкг/дозу наблюдали наиболее выраженный иммуноадъювантный эффект. Однако из-за избыточной стимуляции иммунной системы бустерное введение препарата на 182-й день не приводило к ожидаемому подъему уровня нАТ в сыворотках крови морских свинок. Вероятно, увеличение интервала в схеме иммунизации позволило бы компенсировать нагрузку на иммунную систему. Наиболее выраженный иммунный ответ был получен в ответ на ХП-1/10-SWE. Это подтверждает теорию об усилении иммунного ответа за счёт оптимального соотношения антиген : адъювант [11]. Для адъюванта Sepivac SWE в концентрации 100 мкг/дозу показана иммунологическая и экономическая целесообразность применения низких доз антигена. Подобная комбинация на фоне усиления антигенспецифических иммунных реакций и формирования иммунологической памяти позволяет уменьшить оптимальную дозу антигена и/или количество инъекций.

Заключение

Результаты свидетельствуют о раннем формировании иммунного ответа, интенсивность которого зависела от дозы вводимого иммуногена и комбинации с адъювантами. Наблюдаемые закономерности при иммунизации оптимальными и сниженными

в 10 раз концентрациями антигена в ответ на бустерное введение обосновывают целесообразность меньших доз или увеличение интервалов между бустерными инъекциями во избежание избыточной стимуляции иммунной системы, что было показано нами ранее [11]. Обобщая результаты исследования, можно сделать вывод о том, что наиболее перспективными в составе ХП против ГЛПС можно рассматривать низкоэндогенный апиригенный Ас3-ЛПС *S. sonnei*, содержащий гомогенные длинные О-полисахаридные домены, и эмульсию наноэмульгированного сквалена животного происхождения по типу «масло в воде» (аналог MF59) Sepivac SWE в концентрациях 50 и 100 мкг/дозу соответственно.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ | REFERENCES

1. Tkachenko E.A., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., et al. Hemorrhagic fever with renal syndrome, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2019;25(12):2325–8. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2512.181649>
2. Tkachenko E., Kurashova S., Balkina A., et al. Cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia during 2000–2022. *Viruses.* 2023;15(7):1537. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15071537>
3. Дзагурова Т.К. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: этиология, специфическая лабораторная диагностика, разработка диагностических и вакцинных препаратов: Дисс. ... д-ра мед. наук. М.:2014. Dzagurova T.K. Hemorrhagic fever with renal syndrome: etiology, specific laboratory diagnostics, development of diagnostic and vaccine preparations: Diss. Moscow, 2014.
4. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Набатников П.А. и др. Разработка экспериментальной вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Медицинская вирусология.* 2009;26:194–6. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Nabatnikov P.A., et al. Development of an experimental vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome. *Medical Virology.* 2009;26:194–6.
5. Бархалёва О.А., Воробьёва М.С., Ладыженская И.П. и др. Вакцина против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2011;(1):27–30. Barkhaleva O.A., Vorobieva M.S., Ladyzhenskaya I.P., et al. Vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2011;(1):27–30. EDN: <https://elibrary.ru/rdtech>
6. Dzagurova T.K., Siniugina A.A., Ishmukhametov A.A., et al. Pre-clinical studies of inactivated polyvalent HFRS vaccine. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020;10:545372. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.545372>
7. Kaech S.M., Wherry E.J., Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: implications for vaccine development. *Nat. Rev. Immunol.* 2002;2(4):251–62. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri778>
8. Plotkin S.A. Vaccines: past, present and future. *Nat. Med.* 2005;11(4 Suppl.):S5–11. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1209>
9. Kurashova S.S., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., et al. Various adjuvants effect on immunogenicity of Puumala virus vaccine. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020;10:545371. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.545371>
10. Курашова С.С., Дзагурова Т.К., Егорова М.С. и др. Влияние адъювантов различных групп на иммуногенные свойства кандидатных вакцин против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Биотехнология.* 2020;36(2):74–85. Kurashova S.S., Dzagurova T.K., Egorova M.S., et al. The

- effect of adjuvants of different groups on the immunogenicity of vaccines against hemorrhagic fever with renal syndrome. *Biotechnology in Russia*. 2020;36(2):74–85. DOI: <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2020-36-2-74-85> EDN: <https://elibrary.ru/lthwli>
11. Курашова С.С., Баловнева М.В., Ишмухаметов А.А., и др. Гуморальный иммунный ответ после иммунизации морских свинок вакцинным препаратом на основе вируса Пуумала. *Инфекция и иммунитет*. 2022;12(5):971–5. Kurashova S.S., Balovneva M.V., Ishmukhametov A.A., et al. Immune response evaluation in the guinea pigs after immunization with the experimental Puumala virus vaccine. *Russian Journal of Infection and Immunity*. DOI: <https://doi.org/10.15789/2220-7619-IRE-1956> EDN: <https://elibrary.ru/avumst>
 12. Курашова С.С., Дзагурова Т.К., Ишмухаметов А.А. и др. Адъюванты на основе углеводов для производства вакцин. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(2): 81–91. Kurashova S.S., Dzagurova T.K., Ishmukhametov A.A., et al. Carbohydrate-based adjuvants for vaccine production. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(2): 81–91. DOI: <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-2-81-91> EDN: <https://elibrary.ru/xqrejv>
 13. Pulendran B., Ahmed R. Translating innate immunity into immunological memory: implications for vaccine development. *Cell*. 2006;124(4):849–63. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.019>
 14. Pulendran B. Modulating vaccine responses with dendritic cells and Toll-like receptors. *Immunol. Rev*. 2004;199:227–50. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00144.x>
 15. Germain R.N. An innately interesting decade of research in immunology. *Nat. Med*. 2004;10(12):1307–20. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm1159>
 16. Janeway Jr. C.A., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol*. 2002;20(1):197–216. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.083001.084359>
 17. Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature*. 2004;430(6996):257–63. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature02761>
 18. Savelkoul H.F.J. et al. Choice and design of adjuvants for parenteral and mucosal vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2015; 3(1):148–71. DOI: <https://doi.org/10.3390/vaccines3010148>
 19. Garcia-Vello P., Speciale I., Chiodo F., et al. Carbohydrate-based adjuvants. *Drug Discov. Today: Technol*. 2020;35-36:57–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2020.09.005>
 20. Di Lorenzo F., De Castro C., Silipo A., et al. Lipopolysaccharide structures of Gram-negative populations in the gut microbiota and effects on host interactions. *FEMS Microbiol. Rev*. 2019;43(3):257–72. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz002>
 21. Jin J.W., Tang S.Q., Rong M.Z., et al. Synergistic effect of dual targeting vaccine adjuvant with aminated β -glucan and CpG-oligodeoxynucleotides for both humoral and cellular immune responses. *Acta Biomater*. 2018;78:211–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.002>
 22. Pazos M., Peters K. Peptidoglycan. *Subcell. Biochem*. 2019;92:127–68. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-18768-2_5
 23. Stocker B.L., Kodar K., Wahi K., et al. The effects of trehalose glycolipid presentation on cytokine production by GM-CSF macrophages. *Glycoconj. J*. 2019;36(1):69–78. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10719-018-09857-9>
 24. Clark K., Yau J., Bloom A., et al. Structure-function implications of the ability of monoclonal antibodies against α -galactosylceramide-CD1d complex to recognize β -mannosylceramide presentation by CD1d. *Front. Immunol*. 2019;10:2355. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02355>
 25. Longet S., Abautret-Daly A., Davitt C.J.H., et al. An oral alpha-galactosylceramide adjuvanted *Helicobacter pylori* vaccine induces protective IL-1R- and IL-17R-dependent Th1 responses. *NPJ Vaccines*. 2019;4:45. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-019-0139-z>
 26. Pirahmadi S., Zakeri S., Mehrizi A.A., et al. Combining monophosphoryl lipid a (MPL), CpG oligodeoxynucleotide (ODN), and QS-21 adjuvants induces strong and persistent functional antibodies and T cell responses against cell-traversal protein for ookinetes and sporozoites (CeTOS) of *Plasmodium falciparum* in BALB/c mice. *Infection Immun*. 2019;87(6): e00911-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00911-18>
 27. Fox C.B., Friede M., Reed G.S., Ireton G.C. Synthetic and natural TLR4 agonists as safe and effective vaccine adjuvants. *Subcell. Biochem*. 2010;53:303–21. DOI: https://doi.org/10.1007/978-90-481-9078-2_14
 28. Cluff C.W. Monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant for anti-cancer vaccines: clinical results. *Adv. Exp. Med. Biol*. 2010;667:111–23. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1603-7_10
 29. Coler R.N., Bertholet S., Moutaftis M., et al. Development and characterization of synthetic glucopyranosyl lipid adjuvant system as a vaccine adjuvant. *PLoS One*. 2011;6(1):e16333. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016333>
 30. Gu P., Liu Z., Sun Y., et al. Angelica sinensis polysaccharide encapsulated into PLGA nanoparticles as a vaccine delivery and adjuvant system for ovalbumin to promote immune responses. *Int. J. Pharm*. 2019;554:72–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.11.008>
 31. Bobbala S., Gibson B., Gamble A., et al. Poloxamer 407-chitosan grafted thermoresponsive hydrogels achieve synchronous and sustained release of antigen and adjuvant from single-shot vaccines. *Immunol. Cell Biol*. 2018;96(6):656–65. DOI: <https://doi.org/10.1111/imcb.12031>
 32. Jin J.W., Tang M.Z., Ring M.Z., Zhang M.Q. Synergistic effect of dual targeting vaccine adjuvant with aminated β -glucan and CpG-oligodeoxynucleotides for both humoral and cellular immune responses. *Acta Biomater*. 2018;78:211–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.08.002>
 33. Taleghani N., Bozorg A., Azimi A., et al. Immunogenicity of HPV and HBV vaccines: adjuvanticity of synthetic analogs of monophosphoryl lipid A combined with aluminum hydroxide. *APMIS*. 2019;127(3):150–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/apm.12927>
 34. Ledov V.A., Golovina M.E., Markina A.A., et al. Highly homogeneous tri-acylated S-LPS acts as a novel clinically applicable vaccine against *Shigella flexneri* 2a infection. *Vaccine*. 2019; 37(8):1062–72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.12.067>
 35. de Jonge J., van Dijken H., de Heij F., et al. H7N9 influenza split vaccine with SWE oil-in-water adjuvant greatly enhances cross-reactive humoral immunity and protection against severe pneumonia in ferrets. *NPJ Vaccines*. 2020;5(1):38. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0187-4>
 36. Xu S., Duan H., An Y., et al. Effect of adjuvanting RBD-dimer-based subunit COVID-19 vaccines with Sepivac SWE™. *Vaccine*. 2023;41(17):2793–803. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.03.035>
 37. Егорова М.С., Курашова С.С., Ишмухаметов А.А. и др. Разработка метода количественного определения вирусной РНК для контроля специфической активности вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Вопросы вирусологии*. 2021;66(1):65–73. Egorova M.S., Kurashova S.S., Ishmukhametov A.A., et al. Real-time PCR assay development for the control of vaccine against hemorrhagic fever with renal syndrome. *Problems of Virology*. 2021;66(1):65–73. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-30> EDN: <https://elibrary.ru/ntgzwx>
 38. Курашова С.С., Ишмухаметов А.А., Егорова М.С. и др. Сравнительная характеристика инактивирующих агентов

для создания вакцины против геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. Kurashova S.S., Ishmukhametov A.A., Egorova M.S., et al. Comparative characteristics of inactivation agents for HFRS vaccine development. 2018;17(4):26–8.

DOI: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-4-26-29>

EDN: <https://elibrary.ru/xxfrbj>

39. Perepelov A.V., Shekht M., Liu B., et al. *Shigella flexneri* O-antigens revisited: final elucidation of the O-acetylation

profiles and a survey of the O-antigen structure diversity. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2012;66(2):201–10.

DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-695x.2012.01000.x>

40. Рыбакова А.В., Макарова М.Н. Использование морских свинок в биомедицинских исследованиях. *Международный вестник ветеринарии*. 2018;(1):132–7. Rybakova A.V., Makarova M.N. Using guinea pigs for biomedical research. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2018;(1):132–7. EDN: <https://elibrary.ru/yuucit>

Информация об авторах

Курашова Светлана Сергеевна — к.м.н., в.н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, kurashova_ss@chumakovs.su, <https://orcid.org/0000-0001-9934-699X>

Егорова Мария Сергеевна — к.б.н., с.н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3642-6444>

Ветрова Анна Николаевна — м.н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1143-9732>

Баловнева Мария Владимировна — к.б.н., в.н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2198-7521>

Попова Юлия Валерьевна — н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8231-1018>

Теодорович Ростислав Дмитриевич — н.с. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2117-597X>

Мироненко Анна Александровна — к.б.н., с.н.с. лаб. полисахаридных вакцин ГНЦ Институт иммунологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0009-0006-4809-1433>

Апарин Петр Геннадьевич — д.м.н., зав. лаб. полисахаридных вакцин ГНЦ Институт иммунологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-7899-2626>

Львов Вячеслав Леонидович — к.х.н., зав. лаб. препаративной биохимии ГНЦ Институт иммунологии, Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-0609-8331>

Ткаченко Евгений Александрович — д.м.н., профессор, рук. научного направления учреждения ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6829-1241>

Дзагурова Тамара Казбековна — д.м.н., зав. лаб. геморрагических лихорадок ФНЦРИП им. М.П. Чумакова (Институт полиомиелита), Москва, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6656-1682>

Участие авторов: Дзагурова Т.К., Курашова С.С. — концепция и дизайн исследования; Мироненко А.А., Апарин П.Г., Львов В.Л. — подготовка и передача адъювантов, редактирование текста статьи; Ветрова А.Н., Баловнева М.Б., Попова Ю.В., Теодорович Р.Д. — сбор и обработка материала; Курашова С.С. — анализ и интерпретация результатов исследований; Курашова С.С., Ветрова А.Н. — статистическая обработка; Курашова С.С., Егорова М.С. — написание текста; Дзагурова Т.К. — финальное редактирование статьи; Ткаченко Е.А. — утверждение окончательного варианта статьи; Курашова С.С., Егорова М.С., Дзагурова Т.К. — ответственность за целостность всех частей статьи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям Международного комитета редакторов медицинских журналов, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Статья поступила в редакцию 10.04.2024;
принята к публикации 08.06.2024;
опубликована 29.06.2024

Information about the authors

Svetlana S. Kurashova — Cand. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, kurashova_ss@chumakovs.su, <https://orcid.org/0000-0001-9934-699X>

Maria S. Egorova — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-3642-6444>

Anna N. Vetrova — junior researcher, laboratory assistant, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1143-9732>

Maria V. Balovneva — Cand. Sci. (Biol.), leading researcher, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2198-7521>

Yulia V. Popova — researcher, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8231-1018>

Rostislav D. Teodorovich — researcher, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2117-597X>

Anna A. Mironenko — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of polysaccharide vaccines, SSC Institute of Immunology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0009-0006-4809-1433>

Peter G. Aparin — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory of polysaccharide vaccines, SSC Institute of Immunology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-7899-2626>

Vyacheslav L. Lvov — Cand. Sci. (Chem.), Head, Laboratory of preparative biochemistry, SSC Institute of Immunology, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-0609-8331>

Evgeniy A. Tkachenko — D. Sci. (Med.), Professor, Head, Scientific direction, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6829-1241>

Tamara K. Dzagurova — D. Sci. (Med.), Head, Laboratory of hemorrhagic fevers, Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, Moscow, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6656-1682>

Author contribution: Dzagurova T.K., Kurashova S.S. — concept and design of the study; Mironenko A.A., Aparin P.G., Lvov V.L. — preparation and transfer of adjuvants, editing the text of the article; Vetrova A.N., Balovneva M.B., Popova Yu.V., Teodorovich R.D. — collection and processing of material; Kurashova S.S. — analysis and interpretation of research results; Kurashova S.S., Vetrova A.N. — statistical processing; Kurashova S.S., Egorova M.S. — writing the text; Dzagurova T.K. — final editing of the article; Tkachenko E.A. — approval of the final version of the article; Kurashova S.S., Egorova M.S., Dzagurova T.K. — responsibility for the integrity of all parts of the article. All authors confirm that their authorship meets the criteria of the International Committee of Editors of Medical Journals and have read and approved the final version before publication.

The article was submitted 10.04.2024;
accepted for publication 08.06.2024;
published 29.06.2024