

11. Kochetkov N.K., Nifant'ev N.E., Backinowsky L.V. Synthesis of the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14. *Tetrahedron*. 1987, 43 (13): 3109-3121.
12. Kurbatova E.A., Akhmatova N.K., Akhmatova E.A. et al. Neoglycoconjugate of tetrasaccharide representing one repeating unit of the *Streptococcus pneumoniae* type 14 capsular polysaccharide induces the production of opsonizing IgG1 antibodies and possesses the highest protective activity as compared to hexa- and octasaccharide conjugates. *Front. Immunol.* 2017, 8: 1-13.
13. Reimer K.B., Gidney M.A., Bundle D.R., Pinto B.M. Immunochemical characterization of polyclonal and monoclonal *Streptococcus* group A antibodies by chemically defined glycoconjugates and synthetic oligosaccharides. *Carbohydr Res.* 1992, 232(1): 131-142.
14. Safari D., Dekker H.A., Joosten A.F. Identification of the smallest structure capable of evoking opsonophagocytic antibodies against *S. pneumoniae* type 14. *Infect. Immun.* 2008, 76 : 4615-4623.
15. Song J.Y., Moseley M.A., Burton R.L., Nahm M.H. Pneumococcal vaccine and opsonic pneumococcal antibody. *J. Infect. Chemother.* 2013, 3: 412-425.

Поступила 25.02.18

Контактная информация: Курбатова Екатерина Алексеевна, д.м.н., 105064, Москва, М.Казенный пер., 5а, р.т. (495)917-57-74

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

*И.В.Фельдблюм*¹, *К.А.Субботина*¹, *С.Д.Новгородова*¹, *Г.М.Игнатьев*^{2,6}, *М.Х.Альева*¹,
*М.К.Ерофеева*³, *В.Г.Орловский*⁴, *И.А.Ленева*⁵, *С.Я.Мельников*², *Е.В.Казакова*²,
*Е.П.Начарова*², *В.П.Трухин*²

РЕАКТОГЕННОСТЬ, БЕЗОПАСНОСТЬ И ИММУНОГЕННОСТЬ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ГРИППОЗНОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ РАСЩЕПЛЕННОЙ ВАКЦИНЫ ФЛЮ-М ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ВЗРОСЛЫХ 18-60 ЛЕТ

¹Пермский государственный медицинский университет им. Е.А.Вагнера; ²С.-Петербургский НИИ вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов; ³НИИ гриппа, С.-Петербург; ⁴ООО «Инфекционный центр», Новосибирск; ⁵НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва; ⁶Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П.Чумакова, Москва

Цель. Оценка реактогенности, безопасности и иммуногенности вакцины гриппозной инактивированной расщепленной Флю-М. *Материалы и методы.* Реактогенность, безопасность и иммуногенность препарата исследованы в многоцентровом двойном слепом сравнительном рандомизированном клиническом исследовании при иммунизации добровольцев 18-60 лет (препарат сравнения — инактивированная сплит-вакцина для профилактики гриппа Ваксигрип). *Результаты.* Отечественная расщепленная гриппозная вакцина Флю-М производства СПбНИИВС характеризуется хорошей переносимостью, высоким профилем безопасности и достаточной иммуногенностью, сопоставимой с гриппозной вакциной Ваксигрип. *Заключение.* Вакцина гриппозная инактивированная расщепленная Флю-М производства СПбНИИВС может быть рекомендована для регистрации на территории Российской Федерации для специфической профилактики гриппа у взрослых в возрасте от 18 до 60 лет.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 31—37

Ключевые слова: вакцина против гриппа Флю-М, взрослое население 18-60 лет, безопасность, реактогенность, иммуногенность, рандомизированное клиническое исследование

I.V.Feldblyum¹, K.A.Subbotina¹, S.D.Novgorodova¹, G.M.Ignatev^{2,6}, M.Kh.Alyeva¹,
M.K.Erofeeva³, V.G.Orlovsky⁴, I.A.Leneva⁵, S.Ya.Melnikov², E.V.Kazakova²,
E.P.Nacharova², V.P.Trukhin²

REACTOGENICITY, SAFETY AND IMMUNOGENICITY OF DOMESTIC FLU-M INACTIVATED SPLIT INFLUENZA VACCINE FOR THE IMMUNIZATION OF ADULTS AGED BETWEEN 18 AND 60

¹Vagner Perm State Medical University; ²St. Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera and the Bacterial Preparations Factory; ³Research Institute of Influenza, St. Petersburg; ⁴Centre for Infections Ltd., Novosibirsk; ⁵Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow; ⁶Chumakov Federal Scientific Centre for Research and Development of Immunobiological Products, Moscow, Russian

Aim. The research was aimed at evaluating the reactogenicity, safety and immunogenicity of Flu-M inactivated split influenza vaccine. *Materials and methods.* The reactogenicity, safety and immunogenicity of the drug were studied in the course of a multicenter, double blind, comparative, randomized clinical trial of immunized volunteers aged between 18 and 60 (comparator — Vaxigrip inactivated split vaccine for influenza prevention). *Results.* Domestic Flu-M inactivated split influenza vaccine manufactured by St. Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera features favorable tolerability, high safety profile and adequate immunogenicity which is consistent with that of Vaxigrip influenza vaccine. *Conclusion.* Flu-M inactivated split influenza vaccine manufactured by St. Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera can be recommended for authorization in the Russian Federation for the purpose of specific prophylaxis of influenza for adults aged between 18 and 60.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 5, P. 31–37

Key words: inactivated split influenza vaccine (Flu-M), adult population aged between 18 and 60, safety, reactogenicity, immunogenicity, randomized clinical trial

ВВЕДЕНИЕ

Грипп — наиболее распространенная инфекция, вызывающая ежегодные эпидемии, когда в эпидемический процесс вовлекается до 5-10% взрослого населения и 20-30% детей.

Во всем мире признается, что важнейшей мерой защиты от гриппозной инфекции и ограничения ее распространения является вакцинопрофилактика. Гриппозные вакцины способны защитить от клинического заболевания 70-90% взрослого населения. ВОЗ рекомендует для лиц из групп высокого риска проводить вакцинацию ежегодно, так как она может снизить количество госпитализаций по причине гриппа на 25-39%, а смертность на 39-75% в течение эпидемического сезона [9].

Производство гриппозных вакцин основано на культивировании вируса в культуре соответствующих клеток куриных эмбрионов. Для того, чтобы добиться оптимальной эффективности вакцины против вирусов, превалирующих как в северном, так и в южном полушариях, антигенная структура вакцин пересматривается дважды в год и конкретизируется в соответствии с антигенной характеристикой циркулирующих вирусов гриппа, определенных ВОЗ в рамках глобальной системы эпидемиологического надзора за гриппом (GISRS).

В Российской Федерации зарегистрированы и разрешены к применению для профилактики гриппа как живые, так и инактивированные вакцины. Среди инактивированных вакцин различают цельновирионные, субъединичные и расщепленные. С точки зрения совокупной оценки иммуногенности и переносимости оптимальными считаются расщепленные (сплит) гриппозные вакцины [1, 8, 10]. Преимущество сплит-вакцин в том, что они содержат как наружные, так и внутренние антигены вируса гриппа. Наличие открытых для иммунной системы внутренних антигенов вируса гриппа (нуклеокапсида и матриксного белка) делает сплит-вакцины уникальными. Они защищают не только от ежегодных мутаций вируса гриппа, но частично

и от всех возможных разновидностей вируса, поскольку внутренние антигены подвержены лишь незначительным мутациям. В связи с этим, иммунизация расщепленными вакцинами позволяет сформировать достаточный иммунитет и получить более эффективную эпидемиологическую защиту населения в случае появления новых штаммов подтипов вируса гриппа. В то же время, за счет дополнительной очистки в такой вакцине содержится минимальное количество субстанций, в т.ч. липидных компонентов вируса, с которыми связаны основные побочные реакции [1 — 3, 10].

Сплит-вакцины с успехом используются для профилактики гриппа у детей с 6-месячного возраста, а также у пожилых людей, страдающих хроническими заболеваниями, в том числе у больных бронхиальной астмой [2, 4 — 7].

Рынок отечественных иммунобиологических препаратов представлен в современных условиях, преимущественно, субъединичными вакцинами. Технология и способ получения вакцины гриппозной инактивированной расщепленной как без консерванта, так и с консервантом (тиомерсал) впервые была разработана в С.-Петербургском НИИ вакцин и сывороток, успешно прошла доклинические испытания и I фазу клинических исследований. На основании результатов I фазы клинических исследований, проведенных в 2016 г., была установлена низкая реактогенность, высокий профиль безопасности и иммуногенности данной вакцины, что явилось основанием рекомендовать дальнейшее проведение клинических исследований на расширенном контингенте добровольцев.

Цель настоящего исследования — изучить реактогенность, безопасность и иммуногенность отечественной гриппозной инактивированной расщепленной вакцины Флю-М производства СПбНИИВС в сравнении с инактивированной расщепленной вакциной для профилактики гриппа Ваксигрип производства «Санофи Пастер», Франция, на добровольцах в возрасте 18-60 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактогенность, безопасность и иммуногенность гриппозной вакцины Флю-М были изучены в многоцентровом (Пермский государственный медицинский университет им. Е.А. Вагнера; НИИ гриппа, Санкт-Петербург и ООО «Инфекционный центр», Новосибирск) двойном слепом, сравнительном, рандомизированном клиническом исследовании (протокол клинического исследования «ФМВ-ВГИР-II-001/16»).

Исследование проводилось в соответствии с этическими нормами и требованиями, регламентированными Хельсинской декларацией и Надлежащей клинической практикой (ICHGCP).

Критериями включения добровольцев в исследование явились: возраст на момент вакцинации от 18 до 60 лет; наличие подписанного и датированного информированного согласия на участие в исследовании; способность выполнять требования протокола; для женщин — отрицательный тест на беременность и использование средств контрацепции в течении всего периода проведения исследования.

Критериями не включения в исследование явились: наличие в анамнезе аллергических реакций на куриный белок или любую предшествующую вакцинацию гриппозной вакциной, лейкоз, онкологические заболевания, вирусные гепатиты В и С, сифилис, ВИЧ-инфекция, синдром Гийена-Барре; получение препаратов иммуноглобулина или крови в течении последних трех месяцев до начала исследования, длительное применение иммуносупрессантов или иммунодефицитное состояние; пребывание на учете в туберкулезном, наркологическом или психоневрологическом диспансере, наличие острых или обострившихся на момент исследования хронических заболеваний инфекционной и неинфекционной природы, злоупотребление алкоголем, употребление наркотиков, беременность и лактация, участие в каком-либо другом клиническом исследовании в течение последних 3 месяцев; вакцинация против гриппа в течение 6 месяцев, предшествующих началу клинических исследований.

По результатам клинико-лабораторного скрининга для участия в исследовании были отобраны 400 добровольцев в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст $33,6 \pm 0,6$ года), которые были рандомизированы на 2 группы. Добровольцы 1 группы (группа наблюдения, $n=200$) были привиты вакциной гриппозной инактивированной рас-

щепленной Флю-М (производства СПбНИИВС), содержащей консервант; добровольцы 2 группы (группа сравнения, n=200) — инактивированной сплит-вакциной для профилактики гриппа Ваксигрип (производства «Санофи Пастер», Франция), не содержащей консервант.

Исследуемый иммунобиологический лекарственный препарат представляет собой гриппозную инактивированную расщепленную вакцину, содержащую консервант тиомерсол в количестве 50 мкг. Активные компоненты вакцины — культивированные на куриных эмбрионах инактивированные расщепленные вирусы гриппа, представлены штаммами вируса гриппа типа А (H1N1 и H3N2) и вируса гриппа типа В по $15 \pm 2,2$ мкг гемагглютинина каждый.

Препаратом сравнения явилась инактивированная сплит-вакцина для профилактики гриппа Ваксигрип производства «Санофи Пастер» (Франция), не содержащая консервант, аналогичная по составу исследуемому препарату (серия N3E681V).

Реактогенность вакцины оценивали по наличию местных и общих поствакцинальных реакций, степени их выраженности и продолжительности. Местные реакции оценивали по величине участка гиперемии, отека в месте введения препарата и болезненности, системные реакции — по степени повышения температуры тела и выраженности симптомов интоксикации (повышенная утомляемость, головная боль, головокружение, мышечная боль и др.). Оценка выраженности поствакцинальных местных и системных реакций проводилась по следующим критериям: слабая степень выраженности реакции — гиперемия диаметром до 50 мм или инфильтрат диаметром до 25 мм, наличие слабовыраженных симптомов интоксикации, гипертермия от $37,0$ до $37,8^\circ\text{C}$ соответственно; средняя степень выраженности — гиперемия диаметром более 50 мм или инфильтрат диаметром 26-50 мм, симптомы интоксикации, заметно нарушающие нормальную ежедневную деятельность, гипертермия от $37,9$ до $38,5^\circ\text{C}$; сильная реакция — инфильтрат более 50 мм в диаметре, симптомы, препятствующие нормальной ежедневной деятельности, температура более $38,6^\circ\text{C}$. Активное наблюдение за привитыми в течение первых 7 дней после вакцинации проводили в условиях поликлиники. На 7 день после вакцинации пациенты получали дневник самонаблюдения, в который с 8 по 21 день вносили данные об общем состоянии, температуре тела, наличии поствакцинальных реакций, осложнений и нежелательных явлений.

Безопасность вакцины оценивали по показателям общего анализа крови (содержание эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, форменных элементов, лейкоцитарной формулы), мочи (рН, удельный вес, содержание эритроцитов, лейкоцитов, эпителиальных клеток, цилиндров, белка, глюкозы, кетоновых тел, билирубина, уробилиногена, дрожжевых грибов, бактерий, кристаллов), биохимического анализа крови (АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы, билирубина, общего белка, мочевины, креатинина, С-реактивного белка, глюкозы) и определения содержания общего IgE и специфического IgE к овальбумину в динамике перед вакцинацией, на 3 и 21 сутки после введения вакцины.

Иммуногенную активность вакцины определяли по данным исследования сывороточных проб в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) по стандартной методике на базе НИИВС им. И.И. Мечникова путем определения в сыворотке крови привитых антител к вирусам гриппа А(H1N1), А(H3N2) и В. Рассчитывали фактор сероконверсии, уровень сероконверсии и серопротекции, а также среднюю геометрическую титра.

Статистический анализ проведен с использованием методов описательной статистики. Достоверность различий в сравниваемых группах оценивали с помощью дисперсионного анализа с использованием программы Statistica (версия 6.0). Уровень статистической значимости (вероятность получения ошибки) в 95,0% расценивали как наличие достоверных различий между двумя явлениями. Для создания базы данных была применена программа MS Excel. При анализе полученных результатов определяли средние величины, стандартное отклонение и хи-квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количество зарегистрированных местных и системных поствакцинальных реакций достоверно не различалось между исследуемыми группами ($p > 0,05$) (табл. 1).

Местные поствакцинальные реакции как в группе наблюдения, так и в группе сравнения проявлялись, в основном, в виде болезненности в месте введения препарата. Только у одного добровольца группы сравнения наблюдалась гиперемия. Все местные реакции были слабовыраженными и проходили без применения медикаментозной терапии.

Системные реакции в обеих группах наблюдения характеризовались повышением температуры тела до $37,3^{\circ}\text{C}$ в группе привитых вакциной гриппозной инактивированной Флю-М и до $37,5^{\circ}\text{C}$ в группе привитых вакциной Ваксигрип. У одного добровольца, привитого вакциной Флю-М, выявлена системная реакция в виде кашля и фарингита. Других системных реакций как в группе привитых вакциной гриппозной инактивированной расщепленной Флю-М, так и в группе сравнения зарегистрировано не было. Все системные реакции носили слабовыраженный характер.

Анализ субъективных ощущений добровольцев, зафиксированных в дневниках самонаблюдения с 8 по 21 сутки после иммунизации вакцинами Флю-М и Ваксигрип, не выявил каких-либо признаков побочного действия вакцины.

В динамике наблюдения за привитыми добровольцами не выявлено каких-либо значимых различий в показателях общего анализа крови. Все показатели в обеих группах наблюдения находились в диапазонах нормальных значений.

Средние значения биохимических показателей крови у добровольцев обеих групп на разных сроках наблюдения также колебались в пределах нормативных значений. При анализе уровня общего IgE в сыворотке крови не было обнаружено существенных изменений в динамике (до вакцинации, на 3, 7 и 21 сутки после вакцинации, $p > 0,05$) в обеих группах. Анализ динамики уровня специфического IgE к овальбумину в сыворотке крови до вакцинации, на 7 и 21 сутки после вакцинации также не выявил отклонений. Средние значения общего IgE и специфического IgE к овальбумину во все периоды наблюдения не выходили за пределы нормативных значений.

Достоверно значимых различий в средних показателях общего анализа мочи в динамике наблюдения также не установлено, все показатели находились в пределах нормативных значений.

Оценка иммуногенности вакцины Флю-М в сравнении с вакциной Ваксигрип при однократном введении добровольцам в возрасте 18-60 лет выявила высокую иммуногенную активность ко всем штаммам вируса гриппа (вируса гриппа А (H1N1), вируса гриппа А (H3N2) и вируса гриппа В) (табл. 2).

Достоверных различий в уровне серопротекции, сероконверсии и фактора сероконверсии при введении вакцины Флю-М и вакцины Ваксигрип не выявлено ($p > 0,05$).

Получение высокоэффективных отечественных препаратов для специфической профилактики сезонного гриппа — вопрос стратегической безопасности страны.

Таблица 1. Местные и системные поствакцинальные реакции у 1 и 2 групп добровольцев в течение первых 7 суток наблюдения после вакцинации

Характер поствакцинальной реакции	Степень выраженности	Количество добровольцев, у которых были зарегистрированы поствакцинальные реакции				p
		Группа 1 n=200		Группа 2 n=200		
		абс.	%±m	абс.	%±m	
Местные реакции	Отсутствует	190	95,0±1,5	189	94,5±1,5	0,05 (p = 0,823)
	Слабая	10	5,0±1,5	11	5,5±1,6	
	Средняя	0	0,0	0	0,0	
	Сильная	0	0,0	0	0,0	
Системные реакции	Отсутствует	197	98,5±0,9	199	99,5±0,5	1,01 (p = 0,315)
	Слабая	3	1,5±0,9	1	0,5±0,5	
	Средняя	0	0,0	0	0,0	
	Сильная	0	0,0	0	0,0	

Примечание. Статистические различия достоверны при $p < 0,05$.

Таблица 2. Результаты оценки иммуногенности вакцины Флю-М в сравнении с инактивированной сплит-вакциной Ваксигрип

Препарат	Число лиц с парными сыворотками	Из них с 4-кратной сероконверсией во второй сыворотке после вакцинации		СГТА		Кратность нарастания титров антител (фактор сероконверсии)	Кол-во лиц с защитными титрами антител 1:40 и выше	
		абс.	% ±m	до вакцинации	после вакцинации		абс.	% ±m
Штамм вируса гриппа А (H1N1)								
Флю-М	200	182	91,0±2,0	20,1	271,0	13,5	198	99,0±0,7
Ваксигрип	200	173	86,5±2,4	18,91	285,4	15,1	199	99,5±0,5
Штамм вируса гриппа А (H3N2)								
Флю-М	200	177	88,5±2,3	13,4	190,4	14,2	183	91,5±2,0
Ваксигрип	200	178	89,0±2,2	12,1	162,2	13,4	186	93,0±1,8
Штамм вируса гриппа В								
Флю-М	200	175	87,5±2,3	7,4	56,0	7,6	169	84,5±2,6
Ваксигрип	200	164	82,0±2,7	7,3	55,4	7,6	151	75,5±3,0

Многоцентровое двойное слепое сравнительное рандомизированное клиническое исследование, проведенное в группе добровольцев 18-60 лет (средний возраст составил 33,6±0,6 года) выявило низкую реактогенность и высокий профиль безопасности отечественной расщепленной сплит-вакцины для специфической профилактики гриппа Флю-М производства СПбНИИВС. Местные поствакцинальные реакции слабой степени выраженности были выявлены у 5,0% привитых из группы наблюдения и у 5,5% привитых группы сравнения в виде болезненности в месте введения препарата при надавливании и гиперемии ($p > 0,05$). Системные поствакцинальные реакции слабой и средней степени выраженности в виде повышения температуры отмечались у 1,5% и 0,5% иммунизированных соответственно. Все реакции купировались самостоятельно в течение 1-3 дней без применения медикаментозных препаратов.

Результаты проведенных лабораторных исследований подтвердили, что введение вакцины гриппозной инактивированной расщепленной Флю-М, содержащей консервант, не оказывает негативного влияния на основные показатели клинического и биохимического анализов крови, уровень общего IgE и специфического IgE к овалбумину и показатели общего анализа мочи.

Расщепленная вакцина Флю-М характеризовалась высокой иммунологической эффективностью. Однократное введение ее лицам от 18 до 60 лет обусловило выработку антител ко всем штаммам вируса гриппа. Фактор сероконверсии колебался от 7,6 до 15,1.

Вакцина гриппозная инактивированная расщепленная Флю-М по показателям реактогенности, безопасности и иммуногенности сопоставима с вакциной Ваксигрип, которая используется в Российской Федерации для специфической профилактики гриппа с 1992 г. и соответствует международным требованиям к инактивированным вакцинам. Полученные результаты позволяют рекомендовать вакцину Флю-М для регистрации на территории РФ для профилактики гриппа у лиц 18—60 лет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бектимиров Т.А. Вакцинопрофилактика гриппа. Лечащий врач. 2005, 9. Доступен <https://www.lvrach.ru/2005/09/4533051/>.
2. Медуницын Н.В. Вакцинология. М., Триада-Х, 2010.
3. Медуницын Н.В., Миронов А.Н., Мовсесян А.А. Теория и практика вакцинологии. М., Ремедиум, 2015.
4. Грибкова Н.В., Шмелева Н.П. Ретроспективная оценка профилактики гриппа вакциной «Флюваксин» в постпандемические сезоны 2010-2013 годов в Республике Беларусь. Медицинские новости. 2014, 10: 50-52.
5. Руководство по проведению клинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Под ред. А.Н. Миронова. М., Гриф и К, 2012.

6. Beran J., Prymula R., Chlibek R. et al. Evaluation of reactogenicity and immunogenicity of two influenza vaccines (vaxigrip and fluarix) in the season 1996-1997. *Cent. Eur. J. Public Health*. 1998, 6(4): 269-273.
7. Beyer W., Palache A., Osterhaus A. Comparison of serology and reactogenicity between influenza subunit vaccines and whole virus or split vaccines: A review and metaanalysis of literature. *Clin Drug Invest*. 1998, 15(1):1-12.
8. Bricout H., Chabanon Al., Souverain A. et al. Passive enhanced safety surveillance for Vaxigrip and Intanza 15 µg in the United Kingdom and Finland during the northern hemisphere influenza season 2015/16. *Euro Surveill*. 2017, 22(18): 1-9.
9. Gessner B.D. et al. Seasonal influenza epidemiology in sub-Saharan Africa: a systematic review. *Lancet Infectious Disease*. 2011, 11:223-235.
10. Vaccines against influenza WHO position paper. November 2012. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2012, 87(47):461-76. PMID:23210147.

Поступила 28.02.18

Контактная информация: Фельдблюм Ирина Викторовна, д.м.н., проф,
614000, Пермь, Петропавловская, 26, р.т. (342)218-16-68

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

А.С.Пименова¹, О.Ю.Борисова^{1,2}, М.С.Петрова¹, Е.В.Власов³, И.С.Воронина¹, А.Б.Борисова², С.С.Афанасьев¹, Е.Е.Донских², Л.И.Кафарская², В.А.Алешкин¹, А.В.Алешкин¹, М.С.Афанасьев⁴, А.В. Караулов⁴

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА УСКОРЕННОЙ ГЕНОДИАГНОСТИКИ КОКЛЮША НА ОСНОВЕ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ (LAMP)

¹Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского, ²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, ³Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы, ⁴Первый московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, Москва

Цель. Оптимизация ускоренного способа генодиагностики коклюша на основе изотермической амплификации для выявления ДНК возбудителя. *Материалы и методы.* Исследование проводилось на 35 типовых коллекционных штаммах и 169 штаммах *Bordetella pertussis*, *B.parapertussis*, *B. bronchiseptica*, выделенных в бактериологических лабораториях субъектов РФ. В исследование включено 329 клинических образцов, полученных от больных с подозрением на коклюш и контактных с ними лиц, госпитализированных в ИКБ № 1 ДЗМ. Хромосомную ДНК выделяли стандартным методом кипячения из штаммов, из клинических образцов с помощью коммерческих наборов. Выявление и дифференциацию специфических фрагментов генома возбудителей коклюша, паракоклюша и бронхисептикоза в клиническом материале осуществляли с использованием набора «АмплиСенс® *Bordetella multi-FL*» (ЦНИИЭ, Москва). *Результаты.* Проведена оптимизация ранее предложенного способа и разработан ускоренный метод генодиагностики коклюшной инфекции на основе LAMP с детекцией с помощью электрофореза, а также с помощью интеркалирующего красителя. Разработанный способ генодиагностики позволяет выявлять ДНК *B.pertussis* в течение 4-5 часов от начала исследования в клиническом материале. Аналитическая чувствительность — 10² ГЭ/мл. Оценка валидности показала, что разработанный способ обладает 99,6% чувствительностью и 98,7% специфичностью; прогностическая ценность положительного и отрицательного результата составила 99,6% и 98,7% соответственно; индекс точности (диагностическая эффективность) — 99,4%; отношение правдоподобия положительного и отрицательного результата — 76,6 и 0,004 соответственно. Оценка аналитической надежности в 100% случаев показала сходимость и воспроизводимость методики. *Заключение.* Диагностический тест по выявлению ДНК *B.pertussis* методом LAMP позволит увеличить эффективность лабораторной диагностики коклюшной инфекции.

Журн. мкробиол, 2018, № 5, С. 37—46

Ключевые слова: коклюш, *B.pertussis*, изотермальная амплификация, диагностика