

ПОЛИКОМПОНЕНТНАЯ ВАКЦИНА ИММУНОВАК-ВП-4 И ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ КОНЦЕПЦИЯ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ УСЛОВНО ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва

Цель. Анализ экспериментальных данных и результатов многолетних клинических исследований иммунотерапевтической и иммунопрофилактической эффективности поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4. *Материалы и методы.* Для получения вакцины селекционированы иммуногенные штаммы *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, антигены которых обладали широкой внутри- и межвидовой перекрестной протективной активностью. Иммунологические показатели определяли с помощью проточной цитометрии при использовании диагностических моноклональных антител к цитокинам, Toll-подобным рецепторам, поверхностным молекулам дендритных клеток и лимфоцитов. Клинический эффект Иммуновак-ВП-4 оценивали при хронических воспалительных и аллергических заболеваниях, а также при профилактике острых респираторных заболеваний (ОРЗ) в детских организованных коллективах. *Результаты.* Иммуновак-ВП-4 защищала мышей от заражения этиологически значимыми штаммами бактерий и вирусов, способствовала увеличению TLR-2, 4, 9 экспрессирующих клеток; созреванию дендритных клеток; синтезу цитокинов — IL1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN γ ; пролиферации и усилению цитотоксичности NK-клеток. Отмечен клинический эффект (69,2 — 100)% Иммуновак-ВП-4 при включении в базисную терапию пациентов с хроническими воспалительными и аллергическими заболеваниями. Терапевтический эффект сопровождался положительной динамикой иммунологических показателей, в частности повышением IFN γ и снижением IL-4. Иммунотерапия и иммунопрофилактика при использовании Иммуновак-ВП-4 приводила к снижению числа эпизодов ОРЗ и их бактериальных осложнений, в том числе в детских организованных коллективах. *Заключение.* Иммунологически обоснована целесообразность использования Иммуновак-ВП-4 в комплексном лечении и профилактике бактериальных и вирусных инфекций, вызываемых условно патогенными микроорганизмами, а также при аллергических заболеваниях.

Журн. микробиол., 2019, № 1, С. 43—49

Ключевые слова: Иммуновак-ВП-4, условно патогенные микроорганизмы, иммунотерапия, иммунопрофилактика, врожденный иммунитет

N.B.Egorova, E.A.Kurbatova, N.K.Akhmatova, I.M.Gruber

POLYCOMPONENT VACCINE IMMUNOVAC-VP-4 AND IMMUNOTHERAPEUTIC CONCEPT OF ITS USE FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF DISEASES CAUSED BY OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Aim. Analysis of experimental data and results of long-term clinical studies of immunotherapeutic and prophylactic effectiveness of a polycomponent vaccine, Immunovac-VP-4. *Materials and methods.* Immunogenic strains of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, which antigens possessed broad intra — and interspecific cross-protective activity were selected to obtain the vaccine. Immunological parameters were determined using flow cytometry with the use of diagnostic monoclonal antibodies to cytokines, Toll-like receptors, surface molecules of dendritic cells and lymphocytes. The clinical effect of Immunovac-VP-4 was evaluated in chronic inflammatory and allergic diseases, as well as in the prevention of acute respiratory diseases (ARI) in children's organized groups. *Results.* Immunovac-VP-4, protected the mice from infection caused by etiologically significant strains of bacteria and viruses, increased TLR-2, 4, 9-expressing cells; maturing the dendritic cells; the synthesis of cytokines IL1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN γ ; proliferation and increased cytotoxicity of NK cells. Significant clinical effect (69.2 — 100)% of Immunovac-VP-4 on the background of the basic therapy was obtained in patients with chronic inflammatory and allergic diseases. The therapeutic effect was accompanied by a positive dynamics

of immunological parameters, in particular, an increase in IFN γ and a decrease in IL-4. Immunotherapy and immunoprophylaxis using Immunovac-VP-4 led to a decrease in the number of episodes of acute respiratory infections and their bacterial complications, including children in organized groups. *Conclusion.* Immunological feasibility of using Immunovac-VP-4 in complex treatment and prevention of bacterial and viral infections, caused by opportunistic microorganisms, as well as in allergic diseases was proved.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 1, P. 43—49

Key words: Immunovac-VP-4, opportunistic microorganisms, immunotherapy, immunization, innate immunity

ВВЕДЕНИЕ

Роль условно патогенной микрофлоры в патологии человека возрастает, что связано с трудностями терапии и профилактики этих заболеваний, обусловленных полиэтиологичностью возбудителей и их резистентностью к применяемым химиопрепаратам. Эти факторы практически исключают возможность использования средств специфической профилактики, направленных против отдельных возбудителей, и обосновывают необходимость разработки новых подходов к управлению эпидемическими процессами, вызываемыми условно патогенными микроорганизмами.

За последние десятилетия достигнут значительный прорыв в исследованиях клеточных и молекулярных механизмов иммунитета. Пересмотрены основные представления о роли врожденного иммунитета в реализации резистентности к широкому кругу патогенов, активации адаптивного иммунитета. Установлено, что некоторые бактериальные антигены (липополисахарид, пептидогликан, белковые антигены клеточной стенки и др.) могут быть одним из инструментов программирования и коррекции врожденного иммунитета [1, 13]. Не менее важное значение имеют и современные представления о роли бактериальных антигенов в лечении аллергических заболеваний, основанные на признании ведущей роли иммунных механизмов в патогенезе атопии [10, 15]. Установлена важная роль нарушений в системе врожденного иммунитета, приводящих к формированию IgE-опосредованных аллергических реакций. Особенностью такого генотипа является поляризация иммунного ответа по Th2-типу, что сопровождается снижением содержания Th1 лимфоцитов, снижением синтеза интерферона и его ингибирующего действия на образование IgE.

Достижения иммунологической науки открывают значительные возможности для исследования клеточных и молекулярных механизмов иммунитета. Это, в первую очередь, относится к получению новых знаний о роли врожденного иммунитета в реализации резистентности к широкому кругу патогенов и программированию пути формирования адаптивного иммунитета. Важнейшую роль в осуществлении этих функций врожденного иммунитета играет структура первичного распознавания каждого патогена, что происходит под действием образраспознающих рецепторов (PRRs). Среди PRRs наибольшее внимание исследователей привлекают Toll-подобные рецепторы (TLRs), экспрессируемые эффекторами врожденного иммунитета. После связывания с лигандами TLRs взаимодействуют с клеточными адаптерными молекулами и запускают каскад передачи сигнала T-лимфоцитам. Важными элементами механизма действия бактериальных лигандов является усиление пролиферации и функциональной активности клеток эффекторов иммунитета. Эффекторные механизмы многофакторны, но ключевыми элементами являются дендритные клетки (DC) и естественные киллеры (NK). DC обеспечивают распознавание, процессинг патогенов и антигенное представление их в контексте молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) T-лимфоцитам. Для осуществления этих функций DC продуцируют цитокины, костимулирующие адгезивные молекулы и молекулы антиген представления. При выполнении этих функций DC обеспечивают взаимосвязь врожденного и приобретенного иммунитета и программируют поляризацию T-лимфоцитов по Th1 или Th2-типу [14, 15].

Разработанная в НИИВС им. И.И.Мечникова поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4 содержит большой набор PAMP, являющихся лигандами для TLRs. Антигены этиологически значимых условно патогенных микроорганизмов, входящие в состав Иммуновак-ВП-4, обладают способностью активировать ключевые эффекторы врожденного иммунитета и внутри- и межвидовую перекрестную протективную активность. Эти качества обеспечивают возможность формирования защиты от полиэтиологического комплекса респираторных заболеваний (ОРЗ), воспалительных заболеваний различной локализации и оказывать положительное влияние на течение аллергических заболеваний.

Цель исследования: анализ экспериментальных данных и результатов многолетних клинических исследований иммунотерапевтической и иммунопрофилактической эффективности поликомпонентной вакцины Иммуновак-ВП-4.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4 содержит в своем составе антигены *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* в виде липополисахарида, ассоциированного с белком наружной мембраны указанных трех грамотрицательных микроорганизмов, а также тейхоевых кислот, пептидогликана и белковых антигенов *Staphylococcus aureus*. Для получения вакцины селекционированы наиболее иммуногенные штаммы указанных видов условно патогенных бактерий, антигены которых обладали широкой внутри- и межвидовой перекрестной протективной активностью. Для выделения антигенов использованы щадящие методы выделения антигенов, позволяющие в максимальной степени сохранить их нативную структуру. Вакцина разрешена к применению в практике здравоохранения Министерством здравоохранения и социального развития РФ для назально-подкожного и назально-перорального применения (регистрационное удостоверение от 24.02.2010).

Протективную активность Иммуновак-ВП-4 оценивали в опытах активной защиты мышей от вирулентных штаммов бактерий и вирусов. Иммунологические показатели определяли по морфофункциональным критериям, присущим иммунокомпетентным клеткам, а также с помощью метода проточной цитометрии при использовании диагностических моноклональных антител к цитокинам, Толл-подобным рецепторам, поверхностным молекулам дендритных клеток и лимфоцитов. Клинический эффект Иммуновак-ВП-4 оценивали при хронических воспалительных и аллергических заболеваниях, а также при профилактике острых респираторных заболеваний в детских организованных коллективах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенных экспериментах на мышах выявлено, что под действием Иммуновак-ВП-4 значительно увеличивалось количество экспрессирующих TLR2, TLR4 и TLR9 при разных методах введения вакцины [1, 3]. Прибавление Иммуновак-ВП-4 в среду культивирования DC приводило к их созреванию, что сопровождалось синтезом цитокинов (IL-1 β , IL-6, IFN γ , IL-12); повышением количества клеток, экспрессирующих молекулы CD40, CD80, CD86, CD83 и MHC I и MHC II. При вакцинации мышей Иммуновак-ВП-4 в крови мышей увеличивалось содержание IL1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN γ . Также показано, что Иммуновак-ВП-4 усиливала пролиферацию и цитотоксическое действие NK-клеток [1].

Наряду с исследованиями механизма иммунитета, осуществленного на молекулярно-клеточном уровне, были поставлены опыты по определению протективной активности Иммуновак-ВП-4 при заражении мышей различными условно патогенными возбудителями. В табл. 1 обобщены результаты исследований по защите от восьми бактериальных и двух вирусных возбудителей. Во всех опытах количество выживших после заражения летальными дозами мышей значительно отличалось от непривитого контроля. Приведенные данные подтверждают, что однократная вакцинация Иммуновак-ВП-4 создает протективный эффект от широкого круга патогенов.

Таблица 1. Протективная активность Иммуовак-ВП-4 при заражении штаммами бактерий и вирусов

Вид возбудителя	Срок заражения после однократной подкожной иммунизации, сутки	Иммунизирующая доза, мкг на мышшь	Выжило/Всего после заражения	% выживших
K.pneumoniae	1	200	9/10***	90
	7	-«-	8/10***	80
Контроль		нв	0/10	0
S. aureus	1	200	16/20***	80
	7	-«-	15/20***	75
Контроль		нв	0/20	0
P. vulgaris	1	200	14/20***	70
	7	-«-	20/20***	100
Контроль		нв	0/20	0
E. coli	1	200	17/20***	85
	7	-«-	6/20**	30
Контроль		нв	0/20	0
P. aeruginosa	1	100	13/20**	65
	7	-«-	10/20**	50
Контроль		нв	3/20	15
H. influenzae типа b	1	200	16/20***	80
	8	-«-	9/20***	45
Контроль		нв	0/20	0
S. pneumoniae серотип 3	5	50	27/38***	71
Контроль		нв	0/38	0
Salmonella серовар Typhimurium	1	200	7/10†**	70
Контроль		нв	0/10	0
H. simplex	5	50	9/10††*	90
Контроль		нв	5/10	50
Вирус гриппа H5N2	1	400	8/10*	80
Контроль		нв	1/10	10

Примечание. † — на 5 сутки наблюдения; †† — на 8 сутки наблюдения. Достоверность различий с контролем: * < 0,05; ** < 0,01; *** < 0,001; нв — не вводили. Контроль — интактные (неиммунизированные) мыши, зараженные той же дозой одновременно с опытными мышами.

Таким образом, экспериментальные исследования показали, что Иммуовак-ВП-4 является мощным индуктором эффекторов врожденного иммунитета: вызывает значительную экспрессию TLRs—2, 4, 9; стимулирует DC к созреванию и экспрессии костимулирующих молекул и антигенпрезентирующих молекул CD40, CD80, CD86, CD83, MHC I, MHC II и цитокинов TNF α , IL1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN γ ; способствует повышению цитокинов в крови иммунизированных мышей (IL1 β , IL-6, IL-10, IL-12, IFN γ); программирует дифференцировку Т-лимфоцитов по Th1-пути; повышает цитотоксичность NK-клеток; обладает широкой перекрестной протективной активностью в отношении условно патогенных возбудителей.

В ходе ограниченных и государственных испытаний установлена способность Иммуовак-ВП-4 обеспечивать клинический эффект у детей и взрослых при острых и хронических полиэтиологических респираторных заболеваниях, повышать эффективность базисного лечения гнойно-воспалительных заболеваний органов дыхания, кожи и аллергических заболеваний. У больных, получавших Иммуовак-ВП-4, отмечен стереотипный клинически положительный эффект в пределах 69,2 — 100%, проявляющийся в значительном снижении числа и тяжести рецидивов, улучшении клинических признаков заболеваний, снижении объема принимаемых лекарственных средств, в том числе антибиотиков и глюкокортикостероидов. Важным показателем является также снижение числа ОРЗ и их бактериальных осложнений, в том числе в детских организованных коллективах (табл. 2).

Таблица 2. Клинический эффект Иммуовак-ВП-4

Нозология	Группа	Метод введения	Число привитых	Эффект, %
Заболевания органов дыхания				
ОРЗ, часто болеющие [12]	дети	нп	70	74,0
Хронический бронхит [9]	взрослые	пк	20	95,0
Абсцесс легкого [3]	взрослые	пк	20	75,0
Атопические заболевания				
Бронхиальная астма [7]	взрослые	нпк	26	69,2
Бронхиальная астма [11]	взрослые	нпк	28	82,1
Бронхиальная астма [7]	взрослые	нп	35	88,6
Бронхиальная астма [8]	дети	нп	45	71,1
Атопический дерматит [5]	дети	нп	27	100,0
Латексная аллергия* [6]	взрослые	нп	12	100,0
Другие заболевания				
Герпесвирусная инфекция [2]	взрослые	нп	165	90,0
Пиодермия [4]	взрослые	нпк	59	98,3
Эритемы фигурные [4]	взрослые	нпк		69,56**
Профилактика ОРЗ в детских организованных коллективах [3]				
Привитые	дети	нп	89	13,5***
Непривитые	дети	нв	60	41,6***

Примечание. * без базисной терапии. Наблюдение в течение 1 года и более. ** стойкая клиническая ремиссия, *** наблюдение в течение 14 месяцев. Представлен процент часто болеющих детей дошкольного возраста в привитых и непривитых группах; нп — назально-перорально, пк — подкожно, нпк — назально-подкожно, нв — не вводили.

Один курс профилактического введения Иммуовак-ВП-4 в детских организованных коллективах оказывал длительный профилактический эффект (14-месячный срок наблюдения) на заболеваемость ОРЗ, что проявлялось в снижении числа эпизодов ОРЗ, снижении числа часто болеющих детей, уменьшении бактериальных осложнений (отит, бронхит, гайморит, ангина) [3]

Было проведено также два исследования, в которых наблюдение за детьми проводили в течение семи месяцев. В этот срок из 138 привитых повторные эпизоды ОРЗ были только у одного ребенка, а бактериальные осложнения у двух детей, тогда как в группах непривитых (168 детей) было 10 и 13 детей с повторными эпизодами и 20 детей с бактериальными осложнениями (отит, бронхит). Представленные данные свидетельствуют о значительном профилактическом эффекте действия Иммуовак-ВП-4 на заболеваемость ОРЗ в детских коллективах [3]. В трех последовательно проведенных контролируемых исследованиях получены практически однозначные результаты: снижение числа и длительности течения эпизодов ОРЗ; предупреждение развития повторных эпизодов ОРЗ, в том числе в младших возрастных группах; снижение числа бактериальных осложнений; длительный профилактический эффект в течение 14 месяцев (срок наблюдения) после одного курса введения препарата.

Исследование иммунологических показателей проведены в тех же группах больных, в которых был изучен клинический эффект иммунотерапии при вакцинации Иммуовак-ВП-4. Обобщены результаты по нескольким группам больных. Применение Иммуовак-ВП4 способствовало увеличению экспрессии TLR3, TLR4 и TLR9 у больных фигурными эритемами [7]. Увеличение синтеза $IFN\gamma$ и $IFN\alpha$ выявлено при всех исследованных на этот показатель нозологиях. При этом наибольшие количества продукции $IFN\gamma$ были отмечены при пиодермиях и фигурных эритемах [7]. Изучение спектра цитокинов показало, что введение вакцин у пациентов с фигурными эритемами вызывало повышение $IFN\gamma$ при снижении IL-4. Важным показателем явилось снижение уровня IgE, что отмечено при бронхиальной астме, атопическом дерматите и фигурных эритемах [4,6,7]. Эти данные подтверждают

приведенные результаты экспериментальных исследований о действии Иммуновак-ВП-4 на активацию Т-лимфоцитов по типу Th-1, что приводит к индукции $IFN\gamma$, ингибирующего синтез $IL-4$ и способствующего переключению В-лимфоцитов с синтеза IgE на синтез IgG и IgA.

Введение Иммуновак-ВП-4 способствовало также формированию адаптивного иммунитета. Исследование уровня антител у больных пиодермией выявило их повышение у лиц с исходно низкими титрами к антигенам, входящим в состав Иммуновак-ВП-4, также было показано значительное увеличение аффинности антител [7].

Экспериментальные исследования показали, что Иммуновак-ВП-4 является мощным активатором эффекторов системы врожденного иммунитета, содержит большое число лигандов, связывающихся с TLRs, что способствует быстрому распознаванию патогена, в ответ на который активируются другие эффекторы врожденного иммунитета и происходит передача сигнала Т-лимфоцитам. Наиболее активно Иммуновак-ВП-4 действует на созревание дендритных клеток, что сопровождается появлением на их поверхности костимуляторных и антигенпрезентирующих молекул. Такие созревшие DC синтезируют ряд цитокинов, из которых наибольшее значение имеет $IL-12$, играющий важную роль в программировании направленности активации Т-лимфоцитов по Th1-типу. Такие активированные Т-лимфоциты продуцируют $IFN\gamma$, способствующий переключению В-лимфоцитов с синтеза IgE на синтез IgG и IgA. Этот процесс имеет важнейшее значение и объясняет эффект терапии при аллергических заболеваниях, для которых характерно наличие дисбаланса в системе Th1 и Th2 лимфоцитов. Протективная активность Иммуновак-ВП-4 при защите от бактериальных и вирусных условно патогенных возбудителей также связана со значительной активацией врожденного иммунитета, поскольку эти возбудители чаще вызывают заболевания при сниженной иммунологической резистентности организма, на таком фоне чаще возникают различные осложнения. Длительный эффект, отмечаемый при терапии и профилактике этих заболеваний, также можно объяснить тем, что мощная активация врожденного иммунитета длительно сохраняется и такая ее направленность по Th1-типу способствует формированию адаптивного иммунитета.

Установленный в экспериментальных исследованиях механизм действия Иммуновак-ВП-4 и его подтверждение при клинических исследованиях определяют целесообразность использования Иммуновак-ВП-4 при воспалительных заболеваниях различной локализации, вызываемых условно патогенными микроорганизмами бактериальной и вирусной природы, аллергических заболеваниях, профилактике полиэтиологического комплекса ОРЗ, различных иммунодефицитных состояниях, экстренной профилактике и терапии заболеваний, вызванных неизвестным патогеном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахматова Н.К. Молекулярные и клеточные механизмы действия иммуномодуляторов микробного происхождения на функциональную активность эффекторов врожденного иммунитета. Автореф. дисс. докт. мед. наук. М., 2006.
2. Гусейнова З.К. Комплексный метод лечения простого рецидивирующего генитального герпеса с применением поликомпонентной вакцины ВП-4. Автореф. дисс. канд. мед. наук. М., 2000.
3. Егорова Н.Б., Ахматова Н.К., Курбатова Е.А., Уткина Н.П., Семенов Б.Ф., Зверев В.В. Клеточные и молекулярные основы антимикробного мукозального иммунитета М., ООО «ИПП КУНА», 2013.
4. Немыкина О.Е., Егорова Н.Б., Курбатова Е.А. и др. Иммунологические показатели при терапии атопического дерматита у детей поликомпонентной вакциной Иммуновак-ВП-4. Журн. микробиол. 2005, 5:45-49.
5. Немыкина О.Е., Егорова Н.Б., Щербаква Б.В. и др. Оптимизация терапии атопического дерматита с помощью иммунотерапии. Журн. микробиол. 2005, 4:53-57.
6. Осипова Г.Л. Оптимизация патогенетической терапии бронхиальной астмы и других аллергических заболеваний. Автореф. дисс. докт. мед. наук. М., 2003.
7. Сорокина Е.В., Егорова Н.Б., Масюкова С.А., Ахматова Н.К. Микробные антигены в терапии дерматозов. Медицинское информационное агенство. М., 2018.
8. Степушина М.А. Эффективность поликомпонентной бактериальной вакцины (ВП-4) при бронхиальной астме у детей. Автореф. дисс. канд. мед. наук. М., 1996.

9. Суховская О.А., Александрова Н.И., Егорова Н.Б., Ефремова В.Н. Иммунореактивность больных хроническим бронхитом при вакцинотерапии. Журн. микробиол. 1996, 2:68-71.
10. Хаитов М.Р. Острые респираторные вирусные инфекции и бронхиальная астма. Клеточные и молекулярные аспекты проблемы. Журн.микробиол. 2002, 4:84-93.
11. Чучалин А.Г., Осипова Г.Л., Егорова Н.Б. и др. Контролируемые исследования по эффективности поликомпонентной вакцины при иммунотерапии у больных хроническими обструктивными заболеваниями органов дыхания. Пульмонология. 1995, 2:55-61.
12. Щербакова Б.В. Эффективность поликомпонентной бактериальной вакцины (ВП-4) при бронхиальной астме у детей. Автореф. дисс. канд. мед. наук. М., 1999.
13. Medzhitov R., Janeway Jr. C.A. Innate immunity: impact in the adaptive immune response. Curr. Opin. Immunol. 1997, 9: 4-9.
14. Medzhitov R., Janeway Jr. C.A. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. Science. 2002, 296:298-300.
15. Romagnani S., Parronchi O., Delios M.M. et al. An update on human Th1 and Th2 cells. Int. Arch. Allergy Immunol. 1997, 113:153-156.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Е.М.Зайцев, М.В.Брицина, М.Н.Озерецковская, Н.У.Мерцалова, И.Г.Бажанова

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БИОПЛЕНОК *BORDETELLA PERTUSSIS* НА АБИОТИЧЕСКОМ СУБСТРАТЕ

НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова, Москва

Цель. Выбор оптимальных условий культивирования биопленок *Bordetella pertussis* и сравнительная оценка способности разных штаммов формировать биопленки. *Материалы и методы.* Использовали вакцинный штамм *B. pertussis* № 475 и селекционированный из этого штамма штамм № 475а, отличающийся повышенной вирулентностью. В качестве инокулята для получения биопленок использовали культуры штаммов, выращенных на плотной питательной среде (ППС) и жидкой питательной среде (ЖПС). Интенсивность образования биопленок в круглодонных полистироловых 96-луночные планшетах оценивали окрашиванием 0,1% раствором генциан-фиолетового. *Результаты.* Суточные культуры штамма № 475 с ЖПС формировали умеренные биопленки в диапазоне доз 5 — 1,25 МОЕ (международных оптических единиц)/мл, при отсутствии роста на более низких дозах. Суточные культуры этого штамма с ППС формировали плотные биопленки при посевной дозе в диапазоне от 10 до 1,25 МОЕ/мл, умеренные от 0,625 до 0,157 МОЕ/мл и слабые биопленки в дозе 0,079 МОЕ/мл. Штамм № 475а с ППС формировал плотные биопленки в диапазоне доз от 10 до 0,04 МОЕ/мл и только при дозе 0,02 МОЕ/мл формировались умеренные биопленки. *Заключение.* Разработан простой и информативный метод, позволяющий оценивать способность штаммов *B. pertussis* формировать биопленки в полистироловых планшетах. Культуры, полученные с ППС, формировали более выраженные биопленки, чем культуры с ЖПС. Выявлена повышенная способность к образованию биопленок селекционированным штаммом № 475а, по сравнению с исходным штаммом № 475.

Журн. микробиол., 2019, № 1, С. 49—53

Ключевые слова: штаммы *B. pertussis*, жидкая питательная среда, плотная питательная среда, биопленки

Е.М.Zaytsev, M.V.Britsina, M.N.Ozeretskoyanskaya, N.U.Mertsalova, I.G.Bazhanova

CULTIVATION OF *BORDETELLA PERTUSSIS* BIOFILMS ON ABIOTIC SUBSTRATE

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

Aim. Selection of optimal conditions for the cultivation of *Bordetella pertussis* biofilms and comparative assessment of the ability of different strains to form biofilms. *Materials and methods.* Used a vaccine strain of *B. pertussis* № 475 and selected from this strain strain № 475а, characterized by high virulence. Cultures of strains grown on dense nutrient medium (DNM) and liquid nutrient medium (LNM) were used as inoculates for biofilms production. The intensity of biofilms formation in round-bottom 96-well