

Иммунологические и эпидемиологические аспекты иммуногенности капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин

Зайцев А.Е.¹, Курбатова Е.А.^{1✉}, Егорова Н.Б.¹, Сухова Е.В.², Нифантьев Н.Э.²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

²ФГБУН «Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского» РАН, 119991, Москва, Россия

Включение в национальные программы иммунизации многих стран мира пневмококковых вакцин привело к снижению уровня заболеваний, вызываемых вакцинными серотипами пневмококка, однако не оказало влияния на частоту распространения *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3, входящего в их состав. Результаты испытаний по оценке эпидемиологической эффективности и иммуногенности капсульного полисахарида (КП) *S. pneumoniae* серотипа 3 в составе конъюгированных и полисахаридных пневмококковых вакцин противоречивы. В одних исследованиях показана эффективность вакцинации, другие исследования свидетельствуют о недостаточной иммуногенности и профилактической эффективности КП *S. pneumoniae* серотипа 3. Проведенный авторами анализ результатов клинических исследований показал, что профилактическая эффективность КП *S. pneumoniae* серотипа 3 зависит от типа вакцины, нозологической формы заболевания, возраста, схемы иммунизации. В соответствии с данными литературы наиболее информативным показателем протективной активности КП *S. pneumoniae* в составе пневмококковых вакцин, в том числе серотипа 3, является опсонофагоцитоз. Рассмотрены экспериментальные данные, обосновывающие низкую иммуногенность КП серотипа 3, предположительно связанную с необычным путем синтеза его КП. Для повышения иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 перспективным является использование синтетических олигосахаридов строго определенного химического строения, соответствующих протективным фрагментам КП серотипа 3 и конъюгированных с белком-носителем для индукции Т-зависимого иммунного ответа и иммунологической памяти.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3; капсульный полисахарид пневмококка; конъюгированная пневмококковая вакцина; полисахаридная пневмококковая вакцина; эпидемиологическая эффективность пневмококковых вакцин; опсонофагоцитоз; поствакцинальные пневмококковые антитела.

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-73-30017.

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

Для цитирования: Зайцев А.Е., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Сухова Е.В., Нифантьев Н.Э. Иммунологические и эпидемиологические аспекты иммуногенности капсульного полисахарида *Streptococcus pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(1): 72–82.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-72-82>

Поступила 22.10.2019

Принята в печать 18.12.2019

Immunological and Epidemiological Aspects of the Immunogenicity of *Streptococcus Pneumoniae* Serotype 3 Capsular Polysaccharide in Pneumococcal Vaccines

Anton E. Zaitsev¹, Ekaterina A. Kurbatova^{1✉}, Nadezhda B. Egorova¹, Elena V. Sukhova², Nikolay E. Nifantiev²

¹Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow 105064, Russia;

²N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia

The introduction of pneumococcal vaccines into national immunization programmes around the world has reduced the incidence of pneumococcal vaccine serotypes, but had no influence on the incidence of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 included in their composition. The results of evaluation of epidemiological efficacy and immunogenicity of capsular polysaccharide of *S. pneumoniae* serotype 3 capsular polysaccharide (CP) in conjugated and polysaccharide pneumococcal vaccines are contradictory. Some studies have shown the effectiveness of vaccination, other studies indicate insufficient immunogenicity and prophylactic efficacy of *S. pneumoniae* serotype 3 CP. The authors' analysis of the results of clinical studies showed that the prophylactic efficacy of *S. pneumoniae* serotype 3 CP depends on the type of vaccine, nosological form of the disease, age, immunization schedule. According to the literature data, the most informative parameter of the protective activity of *S. pneumoniae* CP in pneumococcal vaccines, including serotype 3, is opsonophagocytosis. The experimental data of the low immunogenicity of serotype 3 CP, presumably associated with an unusual way of synthesis of its CP, are considered. To increase the immunogenicity of *S. pneumoniae* serotype 3 CP, the use of synthetic oligosaccharides of a strictly defined chemical structure corresponding to the protective fragments of serotype 3 CP and conjugated with a carrier protein for induction of T-dependent immune response and immunological memory is promising.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae* serotype 3; capsular pneumococcal polysaccharide; conjugated pneumococcal vaccine; polysaccharide pneumococcal vaccine; epidemiological efficacy of pneumococcal vaccines opsonophagocytosis; post-vaccination pneumococcal antibodies.

Acknowledgments. This work was supported by a grant from the Russian Science Foundation 19-73-30017.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Zaitsev A.E., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Sukhova E.V., Nifantiev N.E. Immunological and Epidemiological Aspects of the Immunogenicity of *Streptococcus Pneumoniae* Serotype 3 Capsular Polysaccharide in Pneumococcal Vaccines. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 72–82. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-72-82>

Received 22 October 2019
Accepted 18 December 2019

Грамположительные бактерии, относящиеся к виду *Streptococcus pneumoniae*, являются причиной тяжелых заболеваний, преимущественно бронхолегочной локализации, у детей и взрослых. Большая часть штаммов пневмококка окружена капсулой. На основе уникальной химической структуры капсульных полисахаридов (КП) *S. pneumoniae* проводят серотипирование штаммов пневмококка [1–3].

В настоящее время идентифицировано более 90 серотипов пневмококка, примерно 20 из которых являются клинически значимыми. Особого внимания с точки зрения микробиологических особенностей штаммов, распространенности, клинической картины заболеваний и вакцинопрофилактики заслуживает *S. pneumoniae* серотипа 3.

Серотип 3-ассоциированные заболевания

Заболевания, вызванные штаммами *S. pneumoniae* серотипа 3, ассоциированы с высоким риском летального исхода у детей и взрослых по сравнению с другими серотипами пневмококка [4–9], способны вызывать пневмонию с некрозом легочной ткани, эмпиему плевры [10, 11], а также заболевания внелегочной локализации: бактериемию, менингит, абсцесс мозга [2, 7, 12, 13].

Серотип 3 является одним из доминирующих серотипов пневмококка в разных странах мира. Есть основания полагать, что заболевания, вызванные этим серотипом, наиболее опасны для лиц пожилого возраста [14–17].

Высокая вирулентность штаммов серотипа 3 определяется особенностью строения капсулы. Полимерные цепи целлюбиуроновой кислоты капсулы *S. pneumoniae* серотипа 3 ковалентно не связаны с клеточной стенкой, в отличие от других серотипов пневмококка (кроме серотипа 37) [18], и характеризуются тенденцией образовывать при росте на агаре мукоидные колонии [19, 20]. Мукоидные штаммы *S. pneumoniae* серотипа 3 вызывают тяжелые заболевания, характеризующиеся менее успешным и более длительным лечением по сравнению с немуккоидными серотипами и нередко заканчивающиеся летально [14, 21, 22].

S. pneumoniae серотипа 3, как и серотипы 6В, 19А, 19F и 23F, имеет хорошо развитую капсулу и относится к серотипам с низким инвазивным потенциалом, действуя как «оппортунистический» патоген, вызывающий заболевания, ассоциированные с высоким риском летального исхода, преимущественно у иммунокомпрометированных лиц. Серотипы со средним/высоким инвазивным потенциалом (1, 7F, 4, 9N, 9V и 14) и тонкой капсулой наиболее часто вызывают заболевания у здоровых лиц, действуя как первичные патогены [23, 24].

Следует отметить, что распространенность *S. pneumoniae* серотипа 3 в разных странах мира не уменьшается, несмотря на проведение вакцинации мультивалентными вакцинами, содержащими в своем составе КП этого серотипа пневмококка. При исследовании образцов биологического материала пациентов частота выделения серотипов 19F, 23F и 4 ежегодно снижалась, тогда как частота обнаружения серотипа 3 не изменялась с течением времени [15, 25–27], даже несмотря на проведение противопневмококковой вакцинации [28].

В различных регионах Российской Федерации у детей в возрасте до 5 лет среди колонизирующих штаммов пневмококка у носителей доминировали серотипы 3, 6, 9, 14, 19, 23, в меньшей степени 7 и 18; при остром среднем отите — серотипы 3, 4, 6, 9, 14, 19, 23; при внебольничной пневмонии — серотипы 1, 3, 4, 6, 7, 9, 14, 19, 23 [29]. Широкая распространенность серотипов 3, 6, 15 и 19 среди детей с пневмококковой инфекцией подтверждена и в других исследованиях [30]. В Москве среди штаммов 1980–1999 гг. преобладающими серотипами (в порядке уменьшения значимости) были 1, 3, 19F, 6А, 7F, 12F, 18С, 19А, а среди культур 2000–2012 гг. доминировали 3, 19F, 6В, 7F, 15А, 15В, 1, 4, 6А [31].

Клинические исследования

Проведение противопневмококковой вакцинации позволяет предотвратить инфицирование *S. pneumoniae* и уменьшить летальность от этих заболеваний. Успех вакцинопрофилактики пневмококковой инфекции во многом зависит от степени

соответствия серотипового состава вакцины спектру циркулирующих штаммов пневмококка. Несмотря на включение в программы иммунизации многих стран мира 13-валентной конъюгированной пневмококковой вакцины (ПКВ13), заболеваемость, вызываемая *S. pneumoniae* серотипа 3, существенно не уменьшилась, особенно среди взрослых, привитых против пневмококка.

Данные об иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 противоречивы: одни из них свидетельствуют о его эффективности, другие — о низкой иммуногенности. В контролируемом испытании при проведении иммунизации 249 детей в возрасте 6–54 мес ПКВ14 уровни сывороточных антител ко всем серотипам, входящим в состав вакцины, включая серотип 3, увеличивались во всех возрастных группах [32].

При проведении первой фазы клинических испытаний ПКВ20, содержащей добавочно 7 новых серотипов пневмококка (8, 10А, 11А, 12F, 15В, 22F и 33F) и предназначенной для расширения спектра действия уже существующих конъюгированных вакцин (7-, 10- и 13-валентных), оценивали ее эффективность и безопасность. В контролируемом рандомизированном «слепом» исследовании участвовали 66 здоровых взрослых добровольцев в возрасте 18–49 лет, не имеющих в анамнезе пневмококковой инфекции. Исследовали опсонофагоцитарную активность и концентрацию IgG-антител ко всем 20 КП, входящим в состав вакцины, через 28–35 сут после введения одной дозы вакцины. В контрольной группе испытуемым вводили комбинированную дифтерийно-столбнячную вакцину с бесклеточным коклюшным компонентом. Добровольцы хорошо переносили вакцинацию. Отмечено повышение опсонофагоцитарной активности и концентрации IgG-антител ко всем КП пневмококка, входящим в состав вакцины [33].

Приведены данные об эффективности ПКВ13 в отношении *S. pneumoniae* серотипа 3 у пациентов старше 65 лет с внебольничной пневмонией [34].

Показан клинический эффект действия ПКВ13 в предупреждении развития тяжелых инвазивных пневмококковых заболеваний, вызванных *S. pneumoniae* серотипа 3, у детей 0–8 лет в Италии. Серотипирование пневмококка проводили с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. Серотип 3 выявлен у 60 (21%) из 284 детей с инвазивными пневмококковыми заболеваниями. После введения ПКВ13 общее число инвазивных заболеваний, вызванных серотипом 3, сократилось на 13% и на 92% уменьшилось число случаев сепсиса и менингита. Авторы полагают, что ПКВ13 оказывает выраженный эффект при профилактике серотип 3-ассоциированного менингита и сепсиса, тогда как в предупреждении развития пневмонии эффект менее значимый [35].

В настоящее время накопилось значительное количество данных, свидетельствующих о недостаточной иммуногенности КП *S. pneumoniae* серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин, и дискуссии по этому вопросу продолжаются.

Проведено 3 масштабных клинических испытания ПКВ11 у детей с оценкой иммунологических показателей в разные сроки наблюдения. Вакцина содержит в своем составе КП *S. pneumoniae* серотипов 1, 3, 4, 5, 6В, 7F, 9V, 14, 18С, 19F и 23F, каждый из которых индивидуально конъюгирован с протеином D, выделенным из *Haemophilus influenzae*.

Первое рандомизированное «слепое» исследование проведено с 2000 по 2002 г. в Финляндии для оценки иммуногенности ПКВ11 у детей. Вакцину получали 154 ребенка по трем схемам: 1-я группа (основная) — привитые ПКВ11 в возрасте 2, 4, 6 мес при введении 4-й дозы (ревакцинация) в возрасте 12–15 мес (стандартная схема); 2-я группа (группа сравнения) — привитые ПКВ11 в возрасте 2, 4, 6 мес при проведении 4-й иммунизации 23-валентной полисахаридной (не конъюгированной) пневмококковой вакциной (ППВ23) в возрасте 12–15 мес; 3-я группа — привитые вакциной против гепатита В в возрасте 2, 4, 6 мес при проведении 4-й иммунизации ПКВ11 в возрасте 12–15 мес (контроль). Концентрацию сывороточных IgG-антител к вакцинным серотипам определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) у детей в возрасте 2, 7 и 12–15 мес, а также после 4-й иммунизации конъюгированной или полисахаридной вакцинами.

После введения 3 доз ПКВ11 существенно повышалась концентрация IgG-антител к КП серотипов, входящих в состав вакцины (1,26–4,92 мкг/мл), которая зависела от серотипа пневмококка. У детей 2-й группы 4-я иммунизация ППВ23 индуцировала более высокий бустерный ответ, чем 4-я доза ПКВ11 в 1-й группе. А именно, концентрация IgG-антител после ревакцинации ПКВ11 составляла 1,60–9,63 мкг/мл, тогда как после бустерного введения ППВ23 — 4,24–40,54 мкг/мл, в зависимости от серотипа пневмококка. Концентрация антител после однократного введения 1-й дозы ПКВ11 детям в возрасте 12–15 мес в 3-й группе была ниже, чем после введения 4-й дозы вакцины детям 1-й группы. При оценке иммуногенности КП серотипа 3 у детей 1-й группы титр антител к КП всех серотипов пневмококка повышался, за исключением серотипа 3. После однократного введения ПКВ11 на 2-м году жизни детям, ранее не привитым против пневмококка (3-я группа), происходило образование антител к серотипу 3 в концентрации, превышающей таковую у детей 1-го года жизни, прошедших первичный курс вакцинации (3 дозы) ПКВ11. Это свидетельствует о том, что иммуногенность ПКВ11 у детей с возрастом повышалась, даже после однократной иммунизации. Через 15 дней после

бустерной иммунизации ППВ23 на 2-м году жизни у детей 2-й группы титр IgG-антител, индуцированных к КП серотипа 3, повышался наравне с другими серотипами пневмококка. Таким образом, иммунный ответ у детей на ревакцинацию неконъюгированным КП серотипа 3 после первичного курса вакцинации ПКВ11 (2-я группа) не был нарушен, в отличие от такового при ревакцинации ПКВ11 (1-я группа) [36].

Второе проспективное рандомизированное «двойное слепое» исследование проведено в Чехии и Словакии в 2000–2004 гг. Целью исследования явилась оценка эффективности ПКВ11 в профилактике острого среднего отита у детей [37]. В испытании участвовали 4968 детей, которые были разделены на две группы. Первая группа (основная) получала ПКВ11 по стандартной схеме — трехкратно в возрасте 3, 4, 5 мес (первичный курс вакцинации) и в 12–15 мес (ревакцинация); другая (группа контроля) — получала вакцину против гепатита А по той же схеме. Наблюдение за детьми проводили до конца 2-го года жизни ребенка. Серотипирование штаммов пневмококка, выделенных у детей с признаками острого среднего отита (изменения в барабанной перепонке/наличие экссудата или оба этих симптома), проводили методом ИФА. Эффект вакцинации оценивали по первому эпизоду заболевания и по всем эпизодам инфекции, зарегистрированным за весь период наблюдения за детьми. Через 2 нед после 3-й дозы пневмококковой вакцины до возраста ребенка 24–27 мес выявлено 333 клинических эпизода острого среднего отита в группе привитых детей ($n = 2455$) и 499 — в контрольной группе ($n = 2452$), что показало существенное снижение заболеваемости в группе детей, иммунизированных пневмококковой вакциной. Эффективность вакцинации в предупреждении первого эпизода острого среднего отита в группе привитых составила 52,6%; при учете всех эпизодов — 57,6%. Вакцинация способствовала снижению количества эпизодов инфекции, вызванной вакцинными штаммами, на 65,5%, но существенно не влияла на возникновение заболеваний, вызванных невакцинными серотипами пневмококка. Наибольшее количество эпизодов пневмококкового отита вызвали серотипы 3 (37 случаев), 6В (27 случаев), 14 (23 случая), 19F (67 случаев) и 23F (23 случая). В отношении всех серотипов, за исключением серотипа 3, установлен существенный защитный эффект вакцинации, который варьировал от минимального — серотип 19F (44,4%) — до максимального — серотип 14 (95,5%). Что касается серотипа 3, то общее количество эпизодов острого среднего отита в группе, получавшей пневмококковую вакцину, и в контрольной группе составило 20 и 17 соответственно; первый эпизод зарегистрирован в 19 и 17 случаях; первый эпизод до ревакцинации — в 6 и 8 случаях; первый эпизод после ревакцинации — в 13 и 9 случаях соответственно.

Эти данные демонстрируют недостаточную эффективность КП пневмококка серотипа 3 в составе ПКВ в предупреждении острого среднего отита у детей. Все выделенные штаммы серотипа 3, кроме одного, образовывали при росте на агаре мукоидные колонии. Образование антител, индуцированных к КП пневмококка, исследовали в ИФА после первичного курса вакцинации и после ревакцинации ПКВ. Самая высокая концентрация антител (3,78 г/мл) через 1 мес после проведения первичного курса вакцинации выявлена к серотипу 3, однако через 1 мес после ревакцинации наблюдали атипичную иммунологическую реакцию, проявляющуюся в том, что концентрация антител снижалась (2,84 г/мл), тогда как к другим серотипам пневмококка титр антител нарастал. Это согласуется с результатами исследования, проведенного в Финляндии [36]. Серотип 3 относился к числу серотипов с низкой опсонофагоцитарной активностью, которая, однако, повышалась в 1,8 раза после ревакцинации.

Третье открытое исследование проведено в Словакии в 2005 г. и явилось продолжением второго клинического исследования в тех же группах детей, что и в ранее представленной работе [37]. В этом испытании определяли эффективность вакцинации ПКВ11 в предупреждении острого среднего отита у детей в зависимости от концентрации IgG-антител (среднее геометрическое значение концентрации) и в реакции опсонофагоцитоза (среднее геометрическое значение разведения сыворотки). Первой группе детей (основная), прошедших первичный курс и ревакцинацию ПКВ11, в 3,5 года вводили ППВ23. Второй группе детей (контроль), иммунизированных и ревакцинированных вакциной против гепатита А, в том же возрасте также вводили ППВ23 [38]. Показано, что через 15 дней после иммунизации ППВ23 титр IgG-антител ко всем серотипам, входящим в состав ПКВ11, включая серотип 3, был выше, чем у детей в группе контроля и у детей, прошедших ранее как первичный курс вакцинации, так и ревакцинацию ПКВ11. Следует отметить, что после введения ППВ23 детям, прошедшим первичный курс вакцинации и ревакцинацию ПКВ11, концентрация антител к серотипу 3 была самой низкой (7,9 г/мл), тогда как для других серотипов 10–39 г/мл и выше, а у непривитых детей после введения ППВ23 концентрация антител к серотипу 3 была одной из самых высоких среди других серотипов (5 г/мл), для серотипов 1, 4, 7F и 19F (4,6–7,3 г/мл). Опсонизирующая активность антител после введения ППВ23 в отношении серотипа 3 была самой низкой во всех группах, прошедших курс вакцинации ПКВ11 (865 для серотипа 3 и 1890–36 063 для других серотипов), в контрольной группе она составила 518 для серотипа 3, 164 для серотипа 5 и 277 для серотипа 19F. У детей с острым средним отитом наблюдали тенденцию к более низкой concentra-

ции серотипспецифических антител и опсонофагоцитарной активности по сравнению со здоровыми детьми. Показано, что в предупреждении острого среднего отита ключевое значение имеют IgG-антитела с высокой опсонизирующей активностью, тогда как титр антител не является достаточно информативным показателем [39].

Обобщая результаты клинических испытаний у детей по оценке эффективности конъюгированной ПКВ11, содержащей в своем составе КП серотипа 3, следует отметить несколько важных положений. Во-первых, не выявлено защиты от острого среднего отита, вызванного пневмококком серотипа 3. Во-вторых, иммунологическая эффективность вакцинации ПКВ повышалась при проведении бустерной иммунизации полисахаридной вакциной. В-третьих, отмечено развитие атипичного иммунного ответа к КП серотипа 3 после ревакцинации ПКВ при сохранении нормального иммунного ответа на бустерное введение очищенного КП, входящего в состав ППВ23. В-четвертых, определение специфической опсонофагоцитарной активности является наиболее информативной оценкой протективных свойств пневмококковых вакцин.

Еще одно подтверждение недостаточной эффективности в индукции антител к КП серотипа 3 показано при проведении постмаркетингового испытания профилактической эффективности и иммуногенности вакцин ПКВ7 (не содержит КП серотипа 3) и ПКВ13 в Англии, Уэльсе и Северной Ирландии. Целью исследования явилось выявление защиты от серотипов пневмококка, КП которых входят в состав вакцин. Для оценки эффективности противопневмококковой вакцинации в отношении инвазивных пневмококковых заболеваний определяли концентрацию типоспецифических IgG-антител у детей после 2 примирующей дозы ПКВ7 ($n = 126$) и ПКВ13 ($n = 237$) и титр опсонизирующих антител к КП у детей. Показано, что защита от пневмококковой инфекции коррелировала с титром антител к КП. В этом исследовании также установлено, что КП серотипа 3 в составе ПКВ13 оказался недостаточно эффективным. В целом эффект вакцинации ПКВ13 в предупреждении инвазивных пневмококковых заболеваний после введения 2 доз вакцины до возраста ребенка 12 мес и 1 дозы после 12 мес жизни детей составил 75%, причем в 90% случаев для серотипов, входящих в состав ПКВ7, и в 73% — для 6 других серотипов, дополнительно включенных в состав ПКВ13. Защита была показана для 4 из этих 6 серотипов (эффективность вакцинации в отношении серотипа 3 была недостоверной, а случаи заболеваний, вызванных серотипом 5, не зарегистрированы в течение периода наблюдения за детьми) [40].

M. Shiramoto и соавт. показали, что иммуногенность вакцин ПКВ13 и ППВ23 у лиц пожилого

возраста, которую оценивали по титру антител и их опсонизирующей активности, была ниже для КП серотипа 3 по сравнению с другими серотипами пневмококка, причем при введении обеих исследованных вакцин [41].

При иммунизации ППВ не происходило повышения титра антител к КП *S. pneumoniae* серотипа 3 у лиц старше 65 лет и взрослых лиц молодого возраста, тогда как к другим исследованным серотипам (1, 5, 6В, 8 и 14) титр антител в обеих группах повышался [42].

На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что иммуногенность КП различных серотипов пневмококка неодинакова. Вероятно, одной из причин доминирования серотипа 3 после внедрения в практику мультивалентных пневмококковых вакцин является низкая эффективность КП этого серотипа пневмококка [40].

Экспериментальные исследования

По мнению E.H. Choi и соавт., недостаточная эффективность КП серотипа 3 в составе пневмококковых вакцин может быть связана с необычным путем синтеза его КП [18]. В настоящее время установлен механизм синтеза КП для всех известных 94 серотипов пневмококка.

Существуют 2 пути синтеза КП: синтаза-зависимый и *wzu*-зависимый [44–46]. Главное различие между ними состоит в том, что при *wzu*-зависимом синтезе КП ковалентно связан с пептидогликаном клеточной стенки бактерий, тогда как при синтаза-зависимом пути он может отделяться от клеточной стенки. Для большинства серотипов *S. pneumoniae* синтез КП происходит по *wzu*-зависимому пути и только у двух серотипов (3 и 37) — по синтаза-зависимому пути [47, 48]. *S. pneumoniae* серотипа 37 крайне редко встречается у человека, поэтому изучить его эпидемиологическую эффективность в составе вакцин практически невозможно, тогда как серотип 3 является клинически значимым [49].

Показано, что КП *S. pneumoniae* серотипа 3 может быть связан с бактериальной стенкой и одновременно находится в растворенном состоянии в культуральной среде [44]. Авторы работы исследовали штаммы пневмококка, синтезирующие КП двумя различными путями: по синтаза-зависимому — штаммы *S. pneumoniae* серотипов 3 и 37, по *wzu*-зависимому — штаммы *S. pneumoniae* серотипов 1, 4, 6В и 14. После культивирования собирали супернатант, не содержащий бактериальных клеток, и осадок бактерий. Определяли концентрацию КП в супернатанте и в осадке клеток с помощью реакции ингибирования ИФА. В супернатанте среднее содержание КП на 10^7 КОЕ для *S. pneumoniae* серотипа 3 составило 60 мкг, для *S. pneumoniae* серотипа 37 — 130 мкг, что было существенно выше, чем для КП штаммов *S. pneumoniae* серотипов 1, 4, 6В

и 14 (0,4–10 мкг). Соотношение КП в супернатанте/осадке клеток было >1 для синтаза-зависимых серотипов и <1 для wzu-зависимых серотипов.

Для доказательства того, что при инфицировании *S. pneumoniae* серотипа 3 его КП присутствует в свободном состоянии в крови мышей, проводили заражение животных серотипами 3, 4 или 5 дозой 10^3 микробных клеток. Через 24 ч после заражения у всех мышей развивалась бактериемия, и число колониеобразующих единиц (КОЕ) составляло от 6×10^4 КОЕ/мл до $1,3 \times 10^8$ КОЕ/мл в зависимости от серотипа пневмококка. При этом для *S. pneumoniae* серотипа 3 количество КП на 10^7 КОЕ составило 31,2 мкг, что было значительно выше, чем для серотипов 4 и 5 (0,8 мкг). Для оценки влияния освобожденного КП *S. pneumoniae* серотипа 3 на антителозависимый киллинг бактериальных клеток пневмококка в реакции опсонофагоцитоза использовали супернатант культуры или мышиную сыворотку, полученную после заражения *S. pneumoniae* серотипа 3. Бактерицидная активность антител, индуцированных к КП серотипа 3, существенно снижалась в присутствии супернатанта культуры, причем с той же закономерностью, как и при прибавлении очищенного КП *S. pneumoniae* серотипа 3. В тесте пассивной защиты мышей показано, что для снижения степени защиты от заражения *S. pneumoniae* серотипа 3 требовалось 0,2 мкл сыворотки кролика, содержащей 0,03 мкг КП, тогда как для серотипа 4 — 25 мкл культурального супернатанта, содержащего 0,12 мкг КП серотипа 4, т.е. в 4 раза больше.

Принято считать, что для человека защитная минимальная концентрация антител к КП каждого серотипа *S. pneumoniae* составляет 0,35 мкг/мл, что коррелирует с защитой при иммунизации ПКВ. Для КП *S. pneumoniae* серотипа 3 защитная концентрация антител была наибольшей по сравнению с другими серотипами пневмококка, входящими в состав Превенара-13, и составляла 2,83 мкг/мл. Авторы делают заключение, что *S. pneumoniae* серотипа 3 при культивировании *in vitro* и при заражении мышей высвобождает наибольшее количество КП по сравнению с другими серотипами пневмококка, приводя к снижению антителозависимого киллинга бактерий и защиты от инфекции путем связывания свободных антител, индуцированных к КП этого серотипа пневмококка. Не исключено, что КП, с которым связались антитела, также может освободиться от бактерии в окружающей среде, снижая защитные свойства антител.

Следует учитывать, что бактериальный КП состоит из цепей разной длины, поэтому антитела, индуцированные к одному эпитопу, могут быть протективными, а к другому — нет. Низкая эффективность КП в ряде случаев может быть связана со смещением рамки считывания при экспрессии генов, ответственных за продукцию КП при культивировании штамма,

и, как следствие, будет получен менее иммуногенный препарат бактериального КП [47].

С помощью панели из трех моноклональных антител, полученных к КП серотипа 3, показано, что одно антитело обладало опсонизирующей активностью в присутствии комплемента, другое — в отсутствие комплемента, третье не обладало активностью ни в присутствии, ни в отсутствие комплемента. При летальном интраназальном заражении все антитела обладали защитной способностью, однако их действие было связано с взаимодействием с разными клеточными рецепторами [50].

В ранее проведенных нами исследованиях показано, что белоксодержащие препараты, полученные из двух разных штаммов *S. pneumoniae* серотипа 3, при использовании их в качестве твердофазных антигенов в ИФА характеризовались меньшей способностью выявлять перекрестно реагирующие IgG-антитела в гетерологичных антимикробных кроличьих сыворотках по сравнению с антигенами, полученными из штаммов серотипов 6А, 6В, 14, 19А, 19F, 23F [51]. Можно предположить, что недостаточно иммуногенными могут быть не только КП *S. pneumoniae* серотипа 3, но и белоксодержащие антигены этого серотипа пневмококка, что важно при разработке традиционных и рекомбинантных пневмококковых вакцин.

Вариабельность бактериального КП *S. pneumoniae* серотипа 3 может оказывать влияние на качество вакцинных препаратов. Для устранения этого недостатка перспективным является использование протективных синтетических олигосахаридов строго определенного химического строения, являющихся аналогами КП *S. pneumoniae* серотипа 3, конъюгированных с белком-носителем для индукции Т-зависимого иммунного ответа и иммунологической памяти [52–55]. Для конструирования мультивалентной пневмококковой вакцины можно использовать конъюгированные синтетические олигосахариды или их комбинацию с бактериальными КП [56].

ЛИТЕРАТУРА

1. Henrichsen J. Six newly recognized types of Streptococcus pneumoniae. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33(10): 2759-62.
2. Lund E., Henrichsen J. Phenotypic characterization and serotypes identification of CSF isolates in acute bacterial meningitis. *Methods Microbiol.* 1978; (12): 241-62.
3. Calix J.J., Nahm M.H. A new pneumococcal serotype, 11E, has a variably inactivated *wcjE* gene. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(1): 29-38.
DOI: <http://doi.org/10.1086/653123>
4. Weinberger D.M., Harboe Z.B., Sanders E.A., Ndiritu M., Klugman K.P., Ruckinger S., et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(6): 692-9.
DOI: <http://doi.org/10.1086/655828>
5. Grabenstein J.D., Musey L.K. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2399-405.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.096>

6. Martens P., Worm S.W., Lundgren B., Konradsen H.B., Benfield T. Serotype-specific mortality from invasive Streptococcus pneumoniae disease revisited. *BMC Infect. Dis.* 2004; (4): 21. DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-4-21>
7. Gransden W.R., Eykyn S.J., Phillips I. Pneumococcal bacteraemia: 325 episodes diagnosed at St Thomas's Hospital. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed)*. 1985; 290(6467): 505-8. DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.290.6467.505>
8. Harboe Z.B., Thomsen R.W., Riis A., Valentiner-Branth P., Christensen J.J., Lambertsen L., et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009; 6(5): e1000081. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
9. Inverarity D., Lamb K., Diggle M., Robertson C., Greenhalgh D., Mitchell T.J., et al. Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multilocus sequence types. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 6): 793-02. DOI: <http://doi.org/10.1099/jmm.0.028803-0>
10. Bender J.M., Ampofo K., Korgenski K., Daly J., Pavia A.T., Mason E.O., et al. Pneumococcal necrotizing pneumonia in Utah: does serotype matter? *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(9): 1346-52. DOI: <http://doi.org/10.1086/586747>
11. Byington C.L., Korgenski K., Daly J., Ampofo K., Pavia A., Mason E.O. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal parapneumonic empyema. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006; 25(3): 250-4. DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000202137.37642.ab>
12. Ostergaard C., Brandt C., Konradsen H.B., Samuelsson S. Differences in survival, brain damage, and cerebrospinal fluid cytokine kinetics due to meningitis caused by 3 different Streptococcus pneumoniae serotypes: evaluation in humans and in 2 experimental models. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(7): 1212-20. DOI: <http://doi.org/10.1086/423852>
13. Colman G., Hallas G. Systemic disease caused by pneumococci. *J. Infect.* 198; 7(3): 248-55. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0163-4453\(83\)97169-4](http://doi.org/10.1016/s0163-4453(83)97169-4)
14. Namkoong H., Ishii M., Funatsu Y., Kimizuka Y., Yagi K., Asami T., et al. Theory and strategy for pneumococcal vaccines in the elderly. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(2): 336-43. DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1075678>
15. Morimoto K., Suzuki M., Ishifuji T., Yaegashi M., Asoh N., Hamashige N., et al. The burden and etiology of community-onset pneumonia in the aging Japanese population: a multicenter prospective study. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0122247. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0122247>
16. Inostroza J., Vinet A.M., Retamal G., Lorca P., Ossa G., Facklam R.R., et al. Influence of patient age on Streptococcus pneumoniae serotypes causing invasive disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001; 8(3): 556-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.556-559.2001>
17. Scott J.A., Hall A.J., Dagan R., Dixon J.M., Eykyn S.J., Fenoll A., et al. Serogroup-specific epidemiology of Streptococcus pneumoniae: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 22(6): 973-81. DOI: <http://doi.org/10.1093/clinids/22.6.973>
18. Choi E.H., Zhang F., Lu Y.J., Malley R. Capsular polysaccharide (CPS) release by serotype 3 pneumococcal strains reduces the protective effect of anti-type 3 CPS antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016; 23(2): 162-7. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.23.2.162-7.2015>
19. Hammerschmidt S., Wolff S., Hocke A., Rosseau S., Müller E., Rohde M. Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* 2005; 73(8): 4653-67. DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4653-4667.2005>
20. Morona J.K., Morona R., Paton J.C. Attachment of capsular polysaccharide to the cell wall of Streptococcus pneumoniae type 2 is required for invasive disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(22): 8505-10. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0602148103>
21. Sugimoto N., Yamagishi Y., Hirai J., Sakanashi D., Suematsu H., Nishiyama N., et al. Invasive pneumococcal disease caused by mucoid serotype 3 Streptococcus pneumoniae: a case report and literature review. *BMC. Res. Notes.* 2017; 10(1): 21. DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-016-2353-3>
22. Kawasaki S., Aoki N. A case of severe community-acquired pneumonia caused by mucoid type Streptococcus pneumoniae. *Ann. Jpn Resp. Soc.* 2015; 4: 303-8.
23. Athlin S., Kaltoft M., Slotved H.C., Herrmann B., Holmberg H., Konradsen H.B., et al. Association between serotype-specific antibody response and serotype characteristics in patients with pneumococcal pneumonia, with special reference to degree of encapsulation and invasive potential. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11): 1541-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.21.11.1541-9.2014>
24. Littorin N., Uddén F., Ahl J., Resman F., Slotved H.C., Athlin S., et al. Serotypes with low invasive potential are associated with an impaired antibody response in invasive pneumococcal disease. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2746. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02746>
25. Akata K., Chang B., Yatera K., Kawanami T., Yamasaki K., Naito K., et al. Distribution and annual changes in Streptococcus pneumoniae serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. *J. Infect. Chemother.* 2015; 21(10): 723-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.07.002>
26. Chiba N. Current status of invasive pneumococcal diseases and the preventive pneumococcal vaccines in Japan. *Jpn J. Chemother.* 2011; 59: 561-72.
27. Lee S., Lee K., Kang Y., Bae S. Prevalence of serotype and multidrug-resistance of S. pneumoniae respiratory tract isolates in 265 adults and 36 children in Korea, 2002-2005. *Microb. Drug Resist.* 2010; 16(2): 135-42. DOI: <http://doi.org/10.1089/mdr.2009.0114>
28. España P.P., Uranga A., Ruiz L.A., Quintana J.M., Bilbao A., Aramburu A., et al. Evolution of serotypes in bacteremic pneumococcal adult pneumonia in the period 2001-2014, after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine in Bizkaia (Spain). *Vaccine.* 2019; 37(29): 3840-8. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.052>
29. Козлов P.C., Чагарян A.H., Козлова Л.В., Муравьев A.A. Серологическая характеристика и чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей в возрасте до 5 лет в отдельных регионах Российской Федерации. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2011; 13(2): 177-87.
30. Таточенко В.К., Катасова Л.К., Уланова М.А., Батуро А.П., Федоров А.М., Падуков Л.Н. и др. Периодические и географические различия серотипового спектра пневмококков у детей с респираторными заболеваниями и здоровых носителей. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 1994; 71(3): 3-10.
31. Белошицкий Г.В., Королева И.С. Серотиповая характеристика штаммов *S. pneumoniae* в Москве. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2014; (1): 90-7.
32. Douglas R.M., Paton J.C., Duncan S.J., Hansman D.J. Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. *J. Infect. Dis.* 1983; 148(1): 131-7. DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/148.1.131>
33. Thompson A., Lamberth E., Severs J., Scully I., Tarabar S., Ginis J., et al. Phase 1 trial of a 20-valent pneumococcal conjugate vaccine in healthy adults. *Vaccine.* 2019; 37(42): 6201-7. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.048>
34. Laughlin J.M., Jiang Q., Gessner B.D., Swerdlow D.L., Sings H.L., Isturiz R.E., et al. Pneumococcal conjugate vaccine against serotype 3 pneumococcal pneumonia in adults:

- A systematic review and pooled analysis. *Vaccine*. 2019; 37(43): 6310-6.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.059>
35. Lodi L., Ricci S., Nieddu F., Moriondo M., Lippi F., Canessa C., et al. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on severe invasive disease caused by serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* in Italian children. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4): E128.
DOI: <http://doi.org/10.3390/vaccines7040128>
36. Nurkka A., Joensuu J., Henckaerts L., Peeters P., Poolman J., Kilpi T., et al. Immunogenicity and safety of the eleven valent pneumococcal polysaccharide-protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2004; 23(11): 1008-14.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000143640.03214.18>
37. Prymula R., Peeters P., Chrobok V., Kriz P., Novakova E., Kaliskova E., et al. Pneumococcal capsular polysaccharides conjugated to protein D provide protection against otitis media caused by both *Streptococcus pneumoniae* and non-typable *Haemophilus influenzae*: a randomized double-blind efficacy study. *Lancet*. 2006; 367(9512): 740-8.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68304-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68304-9)
38. Schuerman L., Prymula R., Chrobok V., Dieussaert I., Poolman J. Kinetics of the immune response following pneumococcal PD conjugate vaccination. *Vaccine*. 2007; 25(11): 1953-61.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.007>
39. Schuerman L., Prymula R., Henckaerts I. ELISA IgG concentrations and opsonophagocytic activity following pneumococcal protein D conjugate vaccination and relationship to efficacy against acute otitis media. *Vaccine*. 2006; 25(11): 1962-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.008>
40. Andrews N.J., Waight P.A., Burbidge P., Pearce E., Roalfe L., Zancolli M., et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(9): 839-46.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70822-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70822-9)
41. Shiramoto M., Hanada R., Juergens C., Shoji Y., Yoshida M., Ballan B., et al. Immunogenicity and safety of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly Japanese adults. *Hum. Vaccin Immunother.* 2015; 11(9): 2198-206.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1030550>
42. Simonsen V., Brandão A.P., Brandileone M.C., Yara T.I., Di Fabio J.L., Lopes M.H., et al. Immunogenicity of a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in Brazilian elderly. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005; 38(2): 251-60.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000200014>
43. Cartee R.T., Forsee W.T., Schutzbach J.S., Yother J. Mechanism of type 3 capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(6): 3907-14.
DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3907>
44. Cartee R.T., Forsee W.T., Yother J. Initiation and synthesis of the *Streptococcus pneumoniae* type 3 capsule on a phosphatidylglycerol membrane anchor. *J. Bacteriol.* 2005; 187(13): 4470-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.13.4470-4479.2005>
45. Guidolin A., Morona J.K., Morona R., Hansman D., Paton J.C. Nucleotide sequence analysis of genes essential for capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae* type 19F. *Infect. Immun.* 1994; 62(12): 5384-96.
46. Kolkman M.A., Wakarchuk W., Nuijten P.J., van der Zeijst B.A. Capsular polysaccharide synthesis in streptococcus pneumoniae serotype 14: molecular analysis of the complete cps locus and identification of genes encoding glycosyltransferases required for the biosynthesis of the tetrasaccharide subunit. *Mol. Microbiol.* 1997; 26(1): 197-208.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5791940.x>
47. Dillard J.P., Vandersea M.W., Yother J. Characterization of the cassette containing genes for type 3 capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Exp. Med.* 1995; 181(3): 973-83.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.181.3.973>
48. Arrecubieta C., López R., García E. Type 3-specific synthase of *Streptococcus pneumoniae* (Cap3B) directs type 3 polysaccharide biosynthesis in *Escherichia coli* and in pneumococcal strains of different serotypes. *J. Exp. Med.* 1996; 184(2): 449-55.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.184.2.449>
49. Moore M.R., Link-Gelles R., Schaffner W., Lynfield R., Lexau C., Bennett N.M., et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(3): 301-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71081-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71081-3)
50. Tian H., Weber S., Thorkildson P., Kozel T.R., Pirofski L.A. Efficacy of opsonic and nonopsonic serotype 3 pneumococcal capsular polysaccharide-specific monoclonal antibodies against intranasal challenge with *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(4): 1502-13.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.01075-08>
51. Курбатова Е.А., Воробьев Д.С., Егорова Н.Б., Батуро А.П., Романенко Э.Е., Маркова М.Е. и др. Штаммовые различия внутривидовой иммуногенной активности антигенных компонентов *Streptococcus pneumoniae*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; (5): 60-9.
52. Генинг М.Л., Курбатова Е.А., Цветков Ю.Е., Нифантьев Н.Э. Разработка подходов к созданию углеводной конъюгированной вакцины третьего поколения против *Streptococcus pneumoniae*: поиск оптимальных олигосахаридных лигандов. *Успехи химии*. 2015; 84(11): 1100-13.
DOI: <http://doi.org/10.1070/RCR4574>
53. Akhmatova N.K., Kurbatova E.A., Akhmatov E.A., Egorova N.B., Logunov D.Y., Gening M.L., et al. The effect of a BSA conjugate of a synthetic hexasaccharide related to the fragment of capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14 on the activation of innate and adaptive immune responses. *Front. Immunol.* 2016; (7): 248.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00248>
54. Kurbatova E.A., Akhmatova N.K., Akhmatova E.A., Egorova N.B., Yastrebova N.E., Sukhova E.V., 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.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00659>
55. Parameswarappa S.G., Reppe K., Geissner A., Měnová P., Govindan S., Calow A., et al. A Semi-synthetic Oligosaccharide Conjugate Vaccine Candidate Confers Protection against *Streptococcus pneumoniae* Serotype 3 Infection. *Cell. Chem. Biol.* 2016; 23(11): 1407-16.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.09.016>
56. Kaplonek P., Khan N., Reppe K., Schumann B., Emmadi M., Lisboa M.P., et al. Improving vaccines against *Streptococcus pneumoniae* using synthetic glycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2018; 115(52): 13353-8.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1811862115>

REFERENCES

1. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33(10): 2759-62.
2. Lund E., Henrichsen J. Phenotypic characterization and serotypes identification of CSF isolates in acute bacterial meningitis. *Methods Microbiol.* 1978; (12): 241-62.
3. Calix J.J., Nahm M.H. A new pneumococcal serotype, 11E, has a variably inactivated wcjE gene. *J. Infect. Dis.* 2010; 202(1): 29-38.
DOI: <http://doi.org/10.1086/653123>

4. Weinberger D.M., Harboe Z.B., Sanders E.A., Ndiritu M., Klugman K.P., Rückinger S., et al. Association of serotype with risk of death due to pneumococcal pneumonia: a meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51(6): 692-9.
DOI: <http://doi.org/10.1086/655828>
5. Grabenstein J.D., Musey L.K. Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine.* 2014; 32(21): 2399-405.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.096>
6. Martens P., Worm S.W., Lundgren B., Konradsen H.B., Benfield T. Serotype-specific mortality from invasive Streptococcus pneumoniae disease revisited. *BMC Infect. Dis.* 2004; (4): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/1471-2334-4-21>
7. Gransden W.R., Eykyn S.J., Phillips I. Pneumococcal bacteraemia: 325 episodes diagnosed at St Thomas's Hospital. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed).* 1985; 290(6467): 505-8.
DOI: <http://doi.org/10.1136/bmj.290.6467.505>
8. Harboe Z.B., Thomsen R.W., Riis A., Valentiner-Branth P., Christensen J.J., Lambertsen L., et al. Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: a population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009; 6(5): e1000081.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
9. Inverarity D., Lamb K., Diggle M., Robertson C., Greenhalgh D., Mitchell T.J., et al. Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multi-locus sequence types. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 6): 793-02.
DOI: <http://doi.org/10.1099/jmm.0.028803-0>
10. Bender J.M., Ampofo K., Korgenski K., Daly J., Pavia A.T., Mason E.O., et al. Pneumococcal necrotizing pneumonia in Utah: does serotype matter? *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46(9): 1346-52.
DOI: <http://doi.org/10.1086/586747>
11. Byington C.L., Korgenski K., Daly J., Ampofo K., Pavia A., Mason E.O. Impact of the pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal parapneumonic empyema. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2006; 25(3): 250-4.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000202137.37642.ab>
12. Ostergaard C., Brandt C., Konradsen H.B., Samuelsson S. Differences in survival, brain damage, and cerebrospinal fluid cytokine kinetics due to meningitis caused by 3 different Streptococcus pneumoniae serotypes: evaluation in humans and in 2 experimental models. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(7): 1212-20.
DOI: <http://doi.org/10.1086/423852>
13. Colman G., Hallas G. Systemic disease caused by pneumococci. *J. Infect.* 198; 7(3): 248-55.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0163-4453\(83\)97169-4](http://doi.org/10.1016/s0163-4453(83)97169-4)
14. Namkoong H., Ishii M., Funatsu Y., Kimizuka Y., Yagi K., Asami T., et al. Theory and strategy for pneumococcal vaccines in the elderly. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(2): 336-43.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1075678>
15. Morimoto K., Suzuki M., Ishifuji T., Yaegashi M., Asoh N., Hamashige N., et al. The burden and etiology of community-onset pneumonia in the aging Japanese population: a multicenter prospective study. *PLoS One.* 2015; 10(3): e0122247.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0122247>
16. Inostroza J., Vinet A.M., Retamal G., Lorca P., Ossa G., Facklam R.R., et al. Influence of patient age on Streptococcus pneumoniae serotypes causing invasive disease. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001; 8(3): 556-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.8.3.556-559.2001>
17. Scott J.A., Hall A.J., Dagan R., Dixon J.M., Eykyn S.J., Fenoll A., et al. Serogroup-specific epidemiology of Streptococcus pneumoniae: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease. *Clin. Infect. Dis.* 1996; 22(6): 973-81.
DOI: <http://doi.org/10.1093/clinids/22.6.973>
18. Choi E.H., Zhang F., Lu Y.J., Malley R. Capsular polysaccharide (CPS) release by serotype 3 pneumococcal strains reduces the protective effect of anti-type 3 CPS antibodies. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016; 23(2): 162-7.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.00591-15>
19. Hammerschmidt S., Wolff S., Hocke A., Rosseau S., Müller E., Rohde M. Illustration of pneumococcal polysaccharide capsule during adherence and invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* 2005; 73(8): 4653-67.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.73.8.4653-4667.2005>
20. Morona J.K., Morona R., Paton J.C. Attachment of capsular polysaccharide to the cell wall of Streptococcus pneumoniae type 2 is required for invasive disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103(22): 8505-10.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.0602148103>
21. Sugimoto N., Yamagishi Y., Hirai J., Sakanashi D., Suematsu H., Nishiyama N., et al. Invasive pneumococcal disease caused by mucoid serotype 3 Streptococcus pneumoniae: a case report and literature review. *BMC Res. Notes.* 2017; 10(1): 21.
DOI: <http://doi.org/10.1186/s13104-016-2353-3>
22. Kawasaki S., Aoki N. A case of severe community-acquired pneumonia caused by mucoid type Streptococcus pneumoniae. *Ann. Jpn Resp. Soc.* 2015; 4: 303-8.
23. Athlin S., Kalsoft M., Slotved H.C., Herrmann B., Holmberg H., Konradsen H.B., et al. Association between serotype-specific antibody response and serotype characteristics in patients with pneumococcal pneumonia, with special reference to degree of encapsulation and invasive potential. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11): 1541-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/CDLI.00259-14>
24. Littorin N., Uddén F., Ahl J., Resman F., Slotved H.C., Athlin S., et al. Serotypes with low invasive potential are associated with an impaired antibody response in invasive pneumococcal disease. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 2746.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02746>
25. Akata K., Chang B., Yatera K., Kawanami T., Yamasaki K., Naito K., et al. Distribution and annual changes in Streptococcus pneumoniae serotypes in adult Japanese patients with pneumonia. *J. Infect. Chemother.* 2015; 21(10): 723-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jiac.2015.07.002>
26. Chiba N. Current status of invasive pneumococcal diseases and the preventive pneumococcal vaccines in Japan. *Jpn J. Chemother.* 2011; 59: 561-72.
27. Lee S., Lee K., Kang Y., Bae S. Prevalence of serotype and multidrug-resistance of S. pneumoniae respiratory tract isolates in 265 adults and 36 children in Korea, 2002-2005. *Microb. Drug Resist.* 2010; 16(2): 135-42.
DOI: <http://doi.org/10.1089/mdr.2009.0114>
28. España P.P., Uranga A., Ruiz L.A., Quintana J.M., Bilbao A., Aramburu A., et al. Evolution of serotypes in bacteremic pneumococcal adult pneumonia in the period 2001-2014, after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine in Bizkaia (Spain). *Vaccine.* 2019; 37(29): 3840-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.05.052>
29. Kozlov R.S., Chagaryan A.N., Kozlova L.V., Murav'ev A.A. Serological characteristics and antimicrobial susceptibility of Streptococcus pneumoniae isolated from children 0-5 years of age in different regions of Russia. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2011; 13(2): 177-87. (in Russian)
30. Tatochenko V.K., Katosova L.K., Ulanova M.A., Baturo A.P., Fedorov A.M., Padyukov L.N., et al. Serotyping of Streptococcus pneumoniae strains, isolated from children in Ural Region with the use of multiplex PCR. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1994; 71(3): 3-10. (in Russian)
31. Beloshitskiy G.V., Koroleva I.S. Serotype characteristic of S. pneumoniae in Moscow. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2014; (1): 90-7. (in Russian)
32. Douglas R.M., Paton J.C., Duncan S.J., Hansman D.J. Antibody response to pneumococcal vaccination in children younger than five years of age. *J. Infect. Dis.* 1983; 148(1): 131-7.
DOI: <http://doi.org/10.1093/infdis/148.1.131>
33. Thompson A., Lamberth E., Severs J., Scully I., Tarabar S., Ginnis J., et al. Phase 1 trial of a 20-valent pneumococcal conjugate

- vaccine in healthy adults. *Vaccine*. 2019; 37(42): 6201-7.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.048>
34. Laughlin J.M., Jiang Q., Gessner B.D., Swerdlow D.L., Sings H.L., Isturiz R.E., et al. Pneumococcal conjugate vaccine against serotype 3 pneumococcal pneumonia in adults: A systematic review and pooled analysis. *Vaccine*. 2019; 37(43): 6310-6.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.08.059>
35. Lodi L., Ricci S., Nieddu F., Moriondo M., Lippi F., Canessa C., et al. Impact of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on severe invasive disease caused by serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* in Italian children. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4): E128.
DOI: <http://doi.org/10.3390/vaccines7040128>
36. Nurkka A., Joensuu J., Henckaerts I., Peeters P., Poolman J., Kilpi T., et al. Immunogenicity and safety of the eleven valent pneumococcal polysaccharide-protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2004; 23(11): 1008-14.
DOI: <http://doi.org/10.1097/01.inf.0000143640.03214.18>
37. Prymula R., Peeters P., Chrobok V., Kriz P., Novakova E., Kaliskova E., et al. Pneumococcal capsular polysaccharides conjugated to protein D provide protection against otitis media caused by both *Streptococcus pneumoniae* and non-typable *Haemophilus influenzae*: a randomized double-blind efficacy study. *Lancet*. 2006; 367(9512): 740-8.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68304-9](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68304-9)
38. Schuerman L., Prymula R., Chrobok V., Dieussaert I., Poolman J. Kinetics of the immune response following pneumococcal PD conjugate vaccination. *Vaccine*. 2007; 25(11): 1953-61.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.007>
39. Schuerman L., Prymula R., Henckaerts I. ELISA IgG concentrations and opsonophagocytic activity following pneumococcal protein D conjugate vaccination and relationship to efficacy against acute otitis media. *Vaccine*. 2006; 25(11): 1962-8.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.12.008>
40. Andrews N.J., Waight P.A., Burbidge P., Pearce E., Roalfe L., Zancolli M., et al. Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2014; 14(9): 839-46.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70822-9](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70822-9)
41. Shiramoto M., Hanada R., Juergens C., Shoji Y., Yoshida M., Ballan B., et al. Immunogenicity and safety of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in elderly Japanese adults. *Hum. Vaccin Immunother.* 2015; 11(9): 2198-206.
DOI: <http://doi.org/10.1080/21645515.2015.1030550>
42. Simonsen V., Brandão A.P., Brandileone M.C., Yara T.I., Di Fabio J.L., Lopes M.H., et al. Immunogenicity of a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in Brazilian elderly. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005; 38(2): 251-60.
DOI: <http://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000200014>
43. Cartee R.T., Forsee W.T., Schutzbach J.S., Yother J. Mechanism of type 3 capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(6): 3907-14.
DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.275.6.3907>
44. Cartee R.T., Forsee W.T., Yother J. Initiation and synthesis of the *Streptococcus pneumoniae* type 3 capsule on a phosphatidylglycerol membrane anchor. *J. Bacteriol.* 2005; 187(13): 4470-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.187.13.4470-4479.2005>
45. Guidolin A., Morona J.K., Morona R., Hansman D., Paton J.C. Nucleotide sequence analysis of genes essential for capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae* type 19F. *Infect. Immun.* 1994; 62(12): 5384-96.
46. Kolkman M.A., Wakarchuk W., Nuijten P.J., van der Zeijst B.A. Capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae* serotype 14: molecular analysis of the complete cps locus and identification of genes encoding glycosyltransferases required for the biosynthesis of the tetrasaccharide subunit. *Mol. Microbiol.* 1997; 26(1): 197-208.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5791940.x>
47. Dillard J.P., Vandersea M.W., Yother J. Characterization of the cassette containing genes for type 3 capsular polysaccharide biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *J. Exp. Med.* 1995; 181(3): 973-83.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.181.3.973>
48. Arrecubieta C., López R., García E. Type 3-specific synthase of *Streptococcus pneumoniae* (Cap3B) directs type 3 polysaccharide biosynthesis in *Escherichia coli* and in pneumococcal strains of different serotypes. *J. Exp. Med.* 1996; 184(2): 449-55.
DOI: <http://doi.org/10.1084/jem.184.2.449>
49. Moore M.R., Link-Gelles R., Schaffner W., Lynfield R., Lexau C., Bennett N.M., et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect. Dis.* 2015; 15(3): 301-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71081-3](http://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71081-3)
50. Tian H., Weber S., Thorkildson P., Kozel T.R., Pirofski L.A. Efficacy of opsonic and nonopsonic serotype 3 pneumococcal capsular polysaccharide-specific monoclonal antibodies against intranasal challenge with *Streptococcus pneumoniae* in mice. *Infect. Immun.* 2009; 77(4): 1502-13.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.01075-08>
51. Kurbatova E.A., Vorob'ev D.S., Egorova N.B., Baturo A.P., Romanenko E.E., Markova M.E., et al. Strain differences of intra-species immunogenic activity of *Streptococcus pneumoniae* antigen components. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; (5): 60-9. (in Russian)
52. Gening M.L., Kurbatova E.A., Tsvetkov Yu.E., Nifantiev N.E. Development of approaches to a conjugated carbohydrate vaccine of the third generation against *Streptococcus pneumoniae*: the search for optimal oligosaccharide ligands. *Uspekhi khimii*. 2015; 84(11): 1100-13.
DOI: <http://doi.org/10.1070/RCR4574> (in Russian)
53. Akhmatova N.K., Kurbatova E.A., Akhmatov E.A., Egorova N.B., Logunov D.Y., Gening M.L., et al. The effect of a BSA conjugate of a synthetic hexasaccharide related to the fragment of capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 14 on the activation of innate and adaptive immune responses. *Front. Immunol.* 2016; (7): 248.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00248>
54. Kurbatova E.A., Akhmatova N.K., Akhmatova E.A., Egorova N.B., Yastrebova N.E., Sukhova E.V., 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.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00659>
55. Parameswarappa S.G., Reppe K., Geissner A., Ménéová P., Govindan S., Calow A., et al. A Semi-synthetic Oligosaccharide Conjugate Vaccine Candidate Confers Protection against *Streptococcus pneumoniae* Serotype 3 Infection. *Cell. Chem. Biol.* 2016; 23(11): 1407-16.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.chembiol.2016.09.016>
56. Kaplonek P., Khan N., Reppe K., Schumann B., Emmadi M., Lisboa M.P., et al. Improving vaccines against *Streptococcus pneumoniae* using synthetic glycans. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2018; 115(52): 13353-8.
DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1811862115>

Информация об авторах:

Зайцев Антон Евгеньевич — м.н.с., ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8434-231X>. E-mail: anton.zajtseff2015@yandex.ru

Курбатова Екатерина Алексеевна — д.м.н., проф., зав. лабораторией терапевтических вакцин Отдела иммунологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Егорова Надежда Борисовна — д.м.н., проф., в.н.с. лаборатории терапевтических вакцин Отдела иммунологии ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4474-7531>. E-mail: vmegorova@mail.ru

Сухова Елена Викторовна — к.х.н., с.н.с., ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского», 119991, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7589-3876>. E-mail: glycoperl@yandex.ru

Нифантьев Николай Эдуардович — д.х.н., проф., член-корр. РАН, зав. лабораторией химии гликоконъюгатов ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского», 119991, Москва, Россия.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-4050>. E-mail: nen@ioc.ac.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Anton E. Zaitsev — junior researcher, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8434-231X>. E-mail: anton.zajtseff2015@yandex.ru

Ekaterina A. Kurbatova — Doct. Sci. (Med.), Prof., Head, Laboratory of therapeutic vaccines, Department of immunology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0282-4471>. E-mail: kurbatova6162@yandex.ru

Nadezhda B. Egorova — Doct. Sci. (Med.), Prof., leading researcher, Laboratory of therapeutic vaccines, Department of immunology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, 105064, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4474-7531>. E-mail: vmegorova@mail.ru

Elena V. Sukhova — senior researcher, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7589-3876>. E-mail: glycoperl@yandex.ru

Nikolay E. Nifantiev — Doct. Sci. (Chem.), Prof., Corr. Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Glycoconjugate chemistry laboratory, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, 119991, Moscow, Russia.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-4050>. E-mail: nen@ioc.ac.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.