



Приложение к статье:

Лиджиева А.А., Медкова А.Ю., Куликов С.В., Синяшина Л.Н., Сяндюкова Р.А., Марков А.П., Верведа А.Б., Абаева Н.Е., Чернышова И.Н., Гаврилова М.В., Бушкова К.К., Дьяков И.Н., Каратаев Г.И. Клиническое исследование иммуногенности и защитной активности живой рекомбинантной вакцины «ГамЖВК» интраназального применения для профилактики коклюша у взрослых добровольцев.
Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2024;101(6):779–793.

Appendix:

Lidzhieva A.A., Medkova A.Yu., Kulikov S.V., Sinyashina L.N., Sioundioukova R.A., Markov A.P., Verveda A.B., Abaeva N.E., Chernyshova I.N., Gavrilova M.V., Bushkova K.K., Dyakov I.N., Karataev G.I. A clinical study of the immunogenicity and protective potency of a live recombinant GamLPV vaccine for intranasal use for the prevention of whooping cough in adult volunteers
Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2024;101(6):779–793.

Описание исследования

В ходе исследования проводился забор биоматериала:

- определение уровня специфических антител IgG и IgA (ИФА, в сыворотке крови и носороглоточных смывах): до приёма препарата, на 8, 15, 29, 60-й дни исследования после 1-го и 2-го введения препарата;
- определение титров агглютинации сыворотки крови добровольцев суспензии бактерий возбудителя коклюша (РА): до приёма препарата, на 8, 15, 29, 60-й дни исследования после 1-го и 2-го введения препарата;
- определение бактериальной нагрузки в носороглоточных смывах методом ПЦР: до приёма препарата, на 4, 8, 15, 29, 60-й дни исследования после 1-го и 2-го введения препарата;
- определение лабораторных показателей крови: клинический и биохимический анализы крови на скрининге, 15, 60 и 75-й дни исследования.

Распределение добровольцев на 2 группы было проведено согласно рандомизационной схеме протокола исследования.

Число добровольцев (запланированное и проанализированное): популяцию исследования составили 260 здоровых добровольцев мужского и женского пола в возрасте 18–65 лет (включительно), отобранных в соответствии с критериями включения и не имеющих критериев невключения.

Все добровольцы завершили участие в исследовании согласно протоколу, за исключением добровольцев из группы вакцинированных с № 033, 125, 130, 131, 172 и 257, которые досрочно завершили участие в исследовании на разных этапах по

Study description

Biomaterial was collected during the study:

- determination of IgG and IgA specific antibody levels (ELISA, in blood serum and nasopharyngeal/oropharyngeal washings): before taking the drug, on days 8, 15, 29, 60 of the study after the 1st and 2nd administration of the drug;
- determination of serum agglutination titers of volunteers' blood serum suspensions of pertussis pathogen bacteria (AR): before drug administration, on days 8, 15, 29, 60 of the study after the 1st and 2nd drug administration;
- determination of bacterial load in naso- and oropharyngeal washes by PCR: before drug administration, on days 4, 8, 15, 29, 60 of the study after the 1st and 2nd drug administration;
- determination of blood laboratory parameters: clinical and biochemical blood tests at screening, on days 15, 60 and 75 of the trial.

Allocation of volunteers into 2 groups was done according to the randomization scheme of the study protocol.

Number of volunteers (planned and analyzed): the study population consisted of 260 healthy male and female volunteers aged 18–65 years (inclusive), selected according to inclusion criteria and with no non-inclusion criteria.

All volunteers completed their participation in the study according to the protocol, except for volunteers in the vaccinated group with No. 033, 125, 130, 131, 172 and 257 who ended their participation in the study early at different stages due to “Voluntary withdrawal from the study”, No. 036 and 173 due to “the researcher’s opinion that continued participation in the study may affect the safety of the volunteer”, No. 185 due

причине «Добровольный выход из исследования», № 036 и 173 — по причине «По мнению исследователя дальнейшее участие в исследовании может повлиять на безопасность добровольца», № 185 — по причине «Несоответствие критериям включения-невключения, выявленное в ходе исследования» и № 203 — по причине «Возникновение нежелательных явлений (серьёзных нежелательных явлений), когда продолжение участия добровольца в исследовании нежелательно или невозможно (по мнению спонсора (производителя) или исследователя)».

Критерии включения

Для участия в исследовании добровольцы должны были отвечать следующим критериям (критерии включения):

1. Мужчина или женщина в возрасте 18–65 лет включительно.

2. Стабильное с медицинской точки зрения состояние, когда, по мнению исследователя, в период исследования не предполагается госпитализации, а доброволец, вероятно, сможет оставаться в исследовании до последнего визита, предусмотренного протоколом.

3. Согласие использовать надёжные методы контрацепции в течение исследования и 3 мес после его окончания (презерватив со спермицидом).

4. Подписанные Информационный листок и форма информированного согласия на участие в исследовании.

5. Отсутствие специфических IgM к возбудителю коклюша (отрицательный результат ИФА в соответствии с инструкцией производителя тест-системы для выявления антител к возбудителю коклюша).

6. Уровень специфических IgG к возбудителю коклюша менее 45 МЕ/мл.

7. Отсутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных, ротоглоточных аспиратах (ПЦР-РВ).

Критерии не включения

В исследование не могли быть включены добровольцы, у которых присутствовал любой из нижеперечисленных признаков (критерии не включения):

1. Коклюш в анамнезе.

2. Вакцинация против коклюша в течение последних 10 лет, а также любая вакцинация в течение последних 30 дней.

3. Сильные поствакцинальные осложнения в анамнезе.

4. Любые подтверждённые или подозреваемые состояния иммуносупрессии или иммунодефицита, включая ВИЧ-инфекцию, асплению, рецидивирующие тяжёлые инфекции и применение иммуносупрессоров в последние 6 мес (> 20 мг/кг/сут преднизолона или эквивалент, ежедневно или через день в течение > 15 дней, в пределах 30 дней до введения исследуемого препарата), за исключением топиче-

to “Failure to meet the inclusion/non-inclusion criteria identified during the study” and No. 203 due to “Occurrence of adverse events (serious adverse events) where continued participation of the volunteer in the study is undesirable or impossible (in the opinion of the sponsor (manufacturer) or investigator)”.

Inclusion criteria

To participate in the study, volunteers had to meet the following criteria (inclusion criteria):

1. Male or female between the ages of 18–65 inclusive.

2. A medically stable condition where, in the opinion of the researcher, no hospitalization is anticipated during the study period and the volunteer is likely to be able to remain in the study until the last visit required by the protocol.

3. Consent to use reliable contraceptive methods during the study and 3 months after its completion (condom with spermicide).

4. Signed Information Sheet and Informed Consent Form for participation in the study.

5. Absence of specific IgM antibodies to the pertussis pathogen (negative ELISA result according to the manufacturer's instructions for the detection of antibodies to the pertussis pathogen).

6. The level of specific IgG antibodies to the pertussis pathogen is < 45 IU/mL.

7. Absence of *B. pertussis* DNA in nasopharyngeal, oropharyngeal aspirates (qPCR).

Exclusion criteria

Volunteers who had any of the following characteristics (non-inclusion criteria) could not be included in the study:

1. A history of pertussis.

2. Pertussis vaccination within the last 10 years and any vaccination within the last 30 days.

3. Severe history of post-vaccination complications.

4. Any confirmed or suspected immunosuppression or immunodeficiency states including HIV infection, asplenia, recurrent severe infections, and use of immunosuppressants in the past 6 months (> 20 mg/kg/day prednisolone or equivalent, daily or every other day for > 15 days, within 30 days prior to study drug administration), except topical/inhalation steroids or short-term oral steroid therapy (course of < 14 days).

ских/ингаляционных стероидов или краткосрочной терапии пероральными стероидами (курс продолжительностью < 14 дней).

5. Любое другое значимое заболевание, расстройство или находка, которые могут значительно повысить риск для участника, повлиять на способность участия в исследовании или на интерпретацию данных исследования.

6. Признаки алкогольной или наркотической зависимости.

7. Отягощённый аллергологический анамнез (в том числе на лекарственные препараты и пищевые продукты).

8. Получение иммуноглобулинов и/или препаратов крови в течение 3 мес до введения исследуемого препарата или их предполагаемое получение в период исследования.

9. Донорство крови/плазмы, хирургическое вмешательство (в условиях стационара) в течение 6 нед до скрининга.

10. Участие в других клинических исследованиях.

11. Невозможность понимать или следовать инструкциям протокола.

12. Острые инфекционные заболевания менее чем за 4 нед до начала исследования.

13. Первичная злокачественная опухоль в анамнезе.

14. Клинически значимые нарушения свёртываемости (например, дефицит факторов свёртываемости, коагулопатия, нарушение функции и количества тромбоцитов) или анамнез значимых кровотечений или возникновения синяков после синяков после внутримышечных инъекций или венопункции.

15. Беременность, лактация (для добровольцев женского пола).

16. Тяжёлые и/или неконтролируемые заболевания сердечно-сосудистой системы, дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, печени, почек, эндокринной системы, нервной системы, по мнению исследователя (допускается участие добровольцев с лёгкими или среднетяжёлыми хорошо контролируемыми состояниями).

17. Наличие специфических IgM к возбудителю коклюша (положительный результат ИФА в соответствии с инструкцией производителя тест-системы для выявления антител к возбудителю коклюша).

18. Уровень специфических IgG > 45 МЕ/мл.

19. Присутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных, ротоглоточных аспиратах (методом ПЦР-РВ).

5. Any other significant disease, disorder or finding that may significantly increase the risk to the participant, affect the ability to participate in the study, or affect the interpretation of the study data.

6. Signs of alcohol or drug dependence.

7. Aggravated allergic anamnesis (including drug and food allergies).

8. Receipt of immunoglobulins and/or blood products within 3 months prior to administration of study drug or anticipated receipt during the study period.

9. Blood/plasma donation, surgery (inpatient) within 6 weeks prior to screening.

10. Participation in other clinical trials.

11. Inability to understand or follow protocol instructions.

12. Acute infectious diseases less than 4 weeks prior to the study.

13. A history of primary malignancy.

14. Clinically significant coagulation disorders (e.g., clotting factor deficiency, coagulopathy, impaired platelet function and count) or history of significant bleeding or bruising after intramuscular injection or venipuncture.

15. Pregnancy, lactation (for female volunteers).

16. Severe and/or uncontrolled cardiovascular, respiratory, gastrointestinal, hepatic, renal, endocrine, nervous system diseases, in the opinion of the investigator (volunteers with mild to moderate well-controlled conditions are allowed to participate).

17. Presence of specific IgM antibodies to the pertussis pathogen (positive ELISA result in accordance with the manufacturer's instructions for the detection of antibodies to the pertussis pathogen).

18. Specific IgG antibody levels > 45 IU/mL.

19. Presence of *B. pertussis* DNA in nasopharyngeal, oropharyngeal aspirates (by qPCR method).

Исследуемый препарат, доза и способ применения, номер серии

Торговое наименование (проектное): ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша.

Study drug, dose and method of administration, series number

Trade name (project name): GamLPV, a live vaccine for intranasal administration for the prevention of pertussis.

МНН или группировочное название: вакцина коклюшная живая рекомбинантная. Фармакотерапевтическая группа: вакцина для профилактики коклюша.

Код АТХ: J07AJ.

Лекарственная форма: лиофилизат для приготовления суспензии для интраназального введения.

Состав на 1 флакон: аттенуированные бактерии *B. pertussis* 4MKS ($8-10 \times 10^9$ КОЕ), желатин (10 мг), сахароза (100 мг), натрия хлорид (9 мг).

Схема применения: все добровольцы из Г1 получили исследуемый препарат «ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» назально капельно в дозе $4-5 \times 10^9$ КОЕ дважды спустя 60 ± 5 дней после первой инокуляции.

Препарат сравнения, доза и способ применения, номер серии

Плацебо.

Лекарственная форма: лиофилизат для приготовления раствора для интраназального введения.

Состав на 1 флакон: желатин (10 мг), сахароза (100 мг), натрия хлорид (9 мг).

Описание: пористая масса в виде ажурной таблетки белого или светло-кремового цвета. После растворения в 1,0 мл 0,9% раствора натрия хлорида образуется опалесцирующая жидкость без осадка и посторонних включений. Время растворения — не более 3 мин, рН 6,5–7,5.

Схема применения: все добровольцы из Г2 получили плацебо назально капельно согласно схеме терапии.

Продолжительность лечения: двукратно, с интервалом 60 ± 5 дней.

Критерии оценки иммуногенности и эффективности

Исследование проведено с целью определения иммуногенности и защитной активности живой коклюшной вакцины «ГамЖВК» при двукратном интраназальном применении в сравнении с плацебо.

В соответствии с протоколом к контрольным точкам для определения иммуногенности и защитной, противобактерийной активности вакцины отнесены:

1) первичные контрольные точки иммуногенности «ГамЖВК»:

- на 14–28-й день после повторной вакцинации доля добровольцев с более чем двукратным нарастанием количества специфических IgG и IgA в сыворотке крови не должна быть меньше 80%;
- на 14–28-й день после повторной вакцинации доля добровольцев с титром агглютинации 1 : 80 в РА не должна быть меньше 80%;

INN or grouping name: live recombinant pertussis vaccine. Pharmacotherapeutic group: vaccine for prophylaxis of pertussis.

ATC code: J07AJ.

Dosage form: lyophilizate for preparation of suspension for intranasal administration.

Composition per 1 vial: *B. pertussis* 4MKS attenuated bacteria ($8-10 \times 10^9$ CFU), gelatin (10 mg), sucrose (100 mg), sodium chloride (9 mg).

Scheme of administration: all G1 volunteers received the study drug GamLPV, live intranasal vaccine for pertussis prophylaxis” by nasal drip at a dose of $4-5 \times 10^9$ CFU twice 60 ± 5 days after the first inoculation.

Comparison drug, dose and route of administration, series number

Placebo.

Dosage form: lyophilizate for preparation of solution for intranasal administration.

Ingredients per 1 vial: gelatin (10 mg), sucrose (100 mg), sodium chloride (9 mg).

Description: porous mass in the form of openwork tablets of white or light cream color. After dissolution in 1.0 mL of 0.9% sodium chloride solution an opalescent liquid without precipitate and foreign inclusions is formed. Dissolution time — no more than 3 minutes, pH 6.5–7.5.

Scheme of administration: all G2 volunteers received placebo by nasal drip according to the therapy regimen.

Duration of treatment: twice, 60 ± 5 days apart.

Criteria for assessing immunogenicity and efficacy

The study was conducted to determine the immunogenicity and protective activity of the GamLPV live pertussis vaccine when administered twice intranasally in comparison with placebo.

In accordance with the protocol, the control points for determining immunogenicity and protective, anti-bacterial activity of the vaccine are as follows:

1) GamLPV primary immunogenicity control points:

- on day 14–28 after revaccination, the proportion of volunteers with more than twofold increase of specific IgG and IgA antibodies in serum should not be less than 80%;
- on day 14–28 after revaccination, the proportion of volunteers with an agglutination titer of 1 : 80 in AR should not be less than 80%;

2) secondary control points:

- on days 14–28 after booster vaccination, the proportion of volunteers with more than

2) вторичные контрольные точки:

- на 14–28-й день после повторной вакцинации доля добровольцев с более чем двукратным нарастанием количества специфических IgA в назофарингеальных/ротоглоточных аспиратах не должна быть меньше 80%;
- снижение сроков достижения максимальных значений IgG- и IgA- антител в сыворотке крови и назофарингеальных/ротоглоточных аспиратах после повторной вакцинации в сравнении с первой;

3) контрольная точка определения защитной противобактериальной активности ГамЖВК:

- сокращение времени элиминации аттенуированных бактерий из носоглотки после повторного введения бактерий в сравнении с 1-й вакцинацией добровольцев, оцененное по количеству ГЭ (с помощью ПЦР-РВ).

Для представления всего объема полученных данных были сформированы следующие точки:

- уровень специфических IgA и IgG в сыворотке крови после интраназальной вакцинации добровольцев на каждом визите;
- доля добровольцев с более чем двукратным нарастанием уровня специфических IgA и IgG в сыворотке крови на каждом визите;
- сроки достижения максимальных значений IgA- и IgG-антител в сыворотке крови после повторной вакцинации в сравнении с 1-й;
- уровень специфических IgA в назальных аспиратах на каждом визите;
- доля добровольцев с более чем двукратным нарастанием количества специфических IgA в назофарингеальных/ротоглоточных аспиратах на каждом визите;
- сроки достижения максимальных значений IgA-антител в назофарингеальных/ротоглоточных аспиратах после повторной вакцинации в сравнении с 1-й;
- уровень титра агглютинации суспензии бактерий *B. pertussis* сывороткой крови добровольцев, измеренных методом РА, на каждом визите;
- доля добровольцев с титром агглютинации 1 : 80 в РА на каждом визите;
- время элиминации аттенуированных бактерий из носоглотки после повторного введения бактерий в сравнении с 1-й вакцинацией добровольцев, оцененное по количеству ГЭ (с помощью ПЦР-РВ).

В каждой из представленных точек оценки иммуногенности были отдельно рассмотрены первичные и вторичные контрольные точки, определённые протоколом.

Определение уровня специфических антител IgG и IgA (ИФА, в сыворотке крови и рото- и назофарингеальных секретах) и титров агглютинации

twofold increase of specific IgA antibodies in nasopharyngeal/oropharyngeal aspirates should not be less than 80%;

- decreased time to peak IgG and IgA antibodies in serum and nasopharyngeal/oropharyngeal aspirates after repeated vaccination compared to the first one;

3) control point for determining the protective antibacterial activity of GamLPV:

- reduced elimination time of attenuated bacteria from the nasopharynx after repeated bacterial administration compared to the 1st vaccination of volunteers, assessed by the number of GE (using qPCR).

The following points were formulated to represent the entire amount of data obtained:

- serum levels of specific IgA and IgG antibodies after intranasal vaccination of volunteers at each visit;
- proportion of volunteers with more than twofold increase in serum levels of specific IgA and IgG antibodies at each visit;
- timing of reaching the maximum values of IgA and IgG antibodies in serum after repeated vaccination compared to the 1st vaccination;
- level of specific IgA antibodies in nasopharyngeal aspirates at each visit;
- proportion of volunteers with more than two-fold increase in specific IgA antibodies in nasopharyngeal/oropharyngeal aspirates at each visit;
- timing of peak IgA antibody values in nasopharyngeal/oropharyngeal aspirates after booster vaccination compared to the 1st vaccination;
- agglutination titer level of *B. pertussis* bacterial suspension by serum of volunteers measured by the AR method at each visit;
- proportion of volunteers with an agglutination titer of 1 : 80 in AR at each visit;
- elimination time of attenuated bacteria from the nasopharynx after repeated bacterial administration compared to the 1st vaccination of volunteers, estimated by the number of GE (using qPCR).

Primary and secondary controls defined by the protocol were considered separately in each of the immunogenicity assessment points presented.

Quantitation of specific IgG and IgA antibodies (ELISA, in blood serum and oral and nasopharyngeal secretions) and serum agglutination titers of volunteers' serum suspensions of bacteria of the pertussis pathogen (AR) at each administration of the drug were performed before administration (day 1), after administration on days 8, 15, 29 and 60.

Determination of bacterial load in oro- and nasopharyngeal secretions by PCR at each drug administration was performed before drug administration, after the 1st administration after 1 h (day 1), on days 4, 8, 15, 29 and 60.

сывороткой крови добровольцев суспензии бактериального возбудителя коклюша (РА) при каждом введении препарата проводили перед введением (день 1-й), после введения на 8, 15, 29 и 60-й дни.

Определение бактериальной нагрузки в рото- и назофарингеальных секретах методом ПЦР при каждом введении препарата проводили перед введением препарата, после 1-го введения через 1 ч (1-й день), на 4, 8, 15, 29 и 60-й дни.