

РАЗРАБОТКА И ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ ВАКЦИНЫ СИНЕГНОЙНОЙ

© 2019 г. Н. А. Михайлова¹, А. А. Калошин¹, Е. М. Зими́на¹,
Е. О. Калиниченко¹, А. В. Солдатенкова¹, Н. Г. Плеханова²,
Д. В. Викторoв²

*E-mail: alex-k-1973@yandex.ru

¹ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

²ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград, Россия

Поступила: 14.03.2019. Принята: 26.03.2019

Получены три экспериментальные серии рекомбинантной вакцины синегнойной (PBC), состоящей из комплекса рекомбинантного белка F наружной мембраны (OrgF) и рекомбинантного анатоксина, сорбированных на гидроокиси алюминия. В проведенных доклинических исследованиях подтверждена иммуногенность препарата при отсутствии пирогенности, острой и хронической токсичности, аллергенности и иммунотоксичности.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, рекомбинантная вакцина синегнойная (PBC), белок F наружной мембраны (OrgF), анатоксин

DOI: 10.31857/S102872210006487-0

Адрес: 105064, г. Москва, М. Казенный пер., 5а, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», лаборатория протективных антигенов, Михайлова Наталья Александровна.
Тел./факс: +7(495) 9175630, 8965 136 51 45 (моб.).

E-mail: alex-k-1973@yandex.ru

Авторы:

Михайлова Н. А., д.м.н., профессор, заведующая лабораторией протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

Калошин А. А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

Зими́на Е. М., м.н.с. лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

Калиниченко Е. О., аспирант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

Солдатенкова А. В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

Плеханова Н. Г., к.б.н., заведующая лабораторией экспериментальных биомоделей ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Россия;

Викторoв Д. В., д.б.н., руководитель временного творческого коллектива ФКУЗ «Волгоградский научно-исследо-

вательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Распространение синегнойной инфекции в медицинских стационарах наносит значимый социально-экономический ущерб. Это связано с наличием у возбудителя (*Pseudomonas aeruginosa*) множества факторов патогенности и механизмов выработки полирезистентности к антибиотикам [1]. Поэтому актуальным направлением по разработке методов борьбы с синегнойной инфекцией является создание вакцины [2]. В НИИВС им. Мечникова проводятся исследования по разработке антисинегнойных вакцин на основе комплексов рекомбинантных белков и их гибридных вариантов. Установлено, что кандидатные антигены стимулировали протективный эффект в экспериментах на животных [3].

Целью работы явилось получение и доклиническое исследование вакцины, представляющей собой комплекс рекомбинантного белка F наружной мембраны (OrgF) и рекомбинантного анатоксина (нетоксического делеционного варианта экзотоксина А), предназначенной для профилактики синегнойной инфекции.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

Рекомбинантные белки синтезировали в клетках *E. coli* и очищали в колонках с никель-сефарозой. В качестве адьюванта использовали гель гидроокиси алюминия. Защитные свойства исследовали на мышах, которых иммунизировали внутрибрюшинно двукратно с двухнедельным интервалом. Через две недели после второй иммунизации животных заражали культурой *P. aeruginosa* штамма PA103.

Исследование пирогенности РВС проводили на кроликах. При изучении острой токсичности препараты вводили мышам и морским свинкам, осуществляя контроль веса, гематологических показателей, патоморфологические и гистологические исследования на 7-е и 15-е сутки. При оценке хронической токсичности вакцину вводили ежедневно в течение 10 суток крысам и морским свинкам, исследуя вышеперечисленные показатели на 11-е сутки. Местное и местно-раздражающее действие РВС оценивали на морских свинках (внутрикожное введение) и кроликах (инстиляция глаз). При изучении аллергенных свойств проводили трехдневное введение препаратов: подкожно для морских свинок и внутрибрюшинно для мышей. Морским свинкам через 21 день вводили внутривенно несорбированные препараты, а мышам через 7 дней вводили РВС в подушечки одной из лап, стимулируя реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

При исследовании влияния на гуморальный иммунитет РВС инъецировали внутрибрюшинно мышам, а через час вводили эритроциты барана (ЭБ). Через 5 дней определяли число антителобразующих клеток в селезенках. Оценка влияния вакцины на клеточный иммунитет осуществляли путём стимуляции ГЗТ к ЭБ и полному адьюванту Фрейнда (ПАФ) на мышах и морских свинках, соответственно. Мышам ЭБ вводили подкожно одновременно с внутрибрюшинным введением вакцины, затем на 5 сутки в одну из лап инъецировали ЭБ. Морским свинкам вводили РВС и ПАФ. На 21 сутки животные подкожно получали РВС и физиологический раствор (контроль).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

РВС в одной предполагаемой человеческой дозе содержала 25 мкг рекомбинантного белка OprF, 50 мкг рекомбинантного анатоксина и 225 мкг гидроокиси алюминия. Для трех экспериментальных серии РВС подтверждены сте-

рильность, подлинность и апиrogenность. Перед смешиванием отдельные рекомбинантные антигены были охарактеризованы на чистоту, подлинность, стерильность и иммуногенность. Индексы эффективности защитных свойств для исходных рекомбинантных белков соответствовали 2,0; 2,1 и 2,0 в случае рекомбинантного OprF и 2,0; 2,3; 2,1 в случае рекомбинантного анатоксина. Индексы эффективности защитных свойств трех экспериментальных серий РВС составили: 3,3; 3,0 и 3,3. Эти результаты подтвердили аддитивный эффект, получаемый в результате смешивания двух компонентов.

На двух видах животных установлено отсутствие острой и хронической токсичности экспериментальных серий РВС, а также местное действие на коже морских свинок и местно-раздражающего эффекта слизистых глаз кроликов. При исследовании РВС выявлены незначительные симптомы аллергической реакции при введении морским свинкам препаратов, в дозе, десятикратно превышающей предполагаемую дозу для человека, которые исчезали в течение часа. В опытах на мышах не выявлено аллергических реакций ГЗТ. РВС не оказывала существенного иммунотоксического действия.

Таким образом, в результате проведенных исследований получены три серии рекомбинантной вакцины синегнойной, обладающие иммуногенностью и безопасностью.

Работа выполнена в соответствии с Государственным Контрактом от 28 апреля 2017 г. № 14. N08.11.0135 в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Лазарева А. В., Чеботарь И. В., Крыжановская О. А., Чеботарь В. И., Маянский Н. А. *Pseudomonas aeruginosa* патогенность, патогенез и патология. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015, 17(3):170–186. [Lazareva A. V., Tchebotar I. V., Kryzhanovskaya O. A., Tchebotar V. I., Mayanskiy N. A. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, Pathogenesis and Diseases / Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. 2015, 17(3):170–186.]
2. Doring G. and Pier G. B. Vaccines and immunotherapy against *Pseudomonas aeruginosa*. *Vaccine*, 2008, 6(8):1011–1024.
3. Калошин А. А., Солдатенкова А. В., Леонова Е. И., Михайлова Н. А. Получение рекомбинантного гибридного белка OprF-aTox *Pseudomonas aeruginosa* и исследование его протективных свойств.

Российский иммунологический журнал. 2015, 9(2): 490–491. [Kaloshin A. A., Soldatenkova A. V., Leonova E. I., Mihailova N. A. Obtaining the recombinant

fusion protein OprF-aTox *Pseudomonas aeruginosa* and assessment of its protective properties. Russian Journal of Immunology 2015, 9(2): 490–491.]

OBTAINING AND PRECLINICAL STUDIES OF RECOMBINANT PSEUDOMONAS VACCINE

© 2019 N. A. Mikhailova¹, A. A. Kaloshin¹, E. M. Zimina¹, E. O. Kalinichenko¹, A. V. Soldatenkova¹, N. G. Plekhanova², L. V. Victorov²

*E-mail: alex-k-1973@yandex.ru

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

²The Volgograd Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd, Russia

Received: 14.03.2019. Accepted: 26.03.2019

Three experimental lots of Recombinant Pseudomonas Vaccine (RPV) consisting a complex of the recombinant outer membrane protein F (OprF) and the recombinant toxoid that were sorbed on aluminum hydroxide have been obtained. During preclinical studies, we confirmed the immunogenicity of the vaccine that had not pyrogenicity, acute and chronic toxicity, allergenicity and immunotoxicity.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, Recombinant Pseudomonas Vaccine (RPV), Outer Membrane Protein F (OprF), Toxoid

Authors:

Mikhailova N. A., ✉ D. Sc., Head of the Laboratory of the protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia. **E-mail:** alex-k-1973@yandex.ru;

Kaloshin A. A., PhD, Leading researcher of Laboratory of the protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Zimina E. M., Researcher of Laboratory of the protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Kalinichenko E. O., Aspirant of Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Soldatenkova A. V., PhD, Senior research of Laboratory of the protective antigens, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Plekhanova N. G., PhD, Head of the Laboratory of the experimental biomodels, Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd, Russia;

Victorov L. V., D. Sc., Head of the temporary creative team, Volgograd Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Volgograd, Russia.