

ELISA FOR QUANTITATIVE DETECTION OF RECOMBINANT TOXOID IN THE COMPOSITION OF COMPLEX VACCINE AGAINST PSEUDOMONAS INFECTION

© 2018 A. V. Soldatenkova*, A. M. Kudryashova, O. V. Borisova,
N. A. Mikhailova

*E-mail: Sol.alena.v@yandex.ru

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

A method for quantitative determination of the component (toxoid) of the aluminum hydroxide sorbed vaccine against *Pseudomonas aeruginosa* was developed and optimized. The vaccine was conditioned with a conjugate of specific antibodies with horseradish peroxidase. The resulting antibody-anatoxin-aluminum hydroxide complex was separated by centrifugation, non-bound antibodies were determined in supernatants by ELISA. The analysis of the three vaccine series showed that the amount of toxoid ranged from 91 to 104 µg/ml and had much in common with the concentration of toxoid in the control series – 100 µg/ml.

Key words: recombinant toxoid, recombinant *Pseudomonas aeruginosa* vaccine, ELISA

Authors:

Soldatenkova A. V., ✉ PhD, senior researcher of the Laboratory protective antigen, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; **E-mail:** Sol.alena.v@yandex.ru;

Borisova O. V., PhD, Head of the Laboratory of medical biotechnology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Kudryashova A. M., researcher of the Laboratory of medical biotechnology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Mikhailova N. A., DrSci, Professor, PhD, Deputy Director for scientific work, Head of the Laboratory Protective Antigen Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia.

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА 6 ТИПА

© 2018 г. И. Л. Соловьева¹, Е. Н. Галич¹, М. П. Костинов^{3,4},
А. И. Кусельман¹, А. А. Соловьева¹, Ю. В. Антохина¹,
А. А. Гущина², М. А. Стенюшкина², В. В. Безик²

*E-mail: kate-reznikova@mail.ru

¹ФГБОУ ВО Ульяновский Государственный Университет, Ульяновск, Россия;

²ГУЗ «Областная детская клиническая больница им. Горячева», Ульяновск, Россия;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова», Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет
им. И. М. Сеченова» МЗ РФ, Москва, Россия

Система клеточного иммунитета играет немаловажную роль в развитии иммунного ответа при герпетической инфекции. Доказано, что клеточные механизмы определяют характер течения, частоту и интенсивность рецидивов герпетической инфекции. Особенности клеточного иммунитета при рецидивирующей герпетической инфекции изучены в основном у взрослых, в то время как среди детей таких исследований недостаточно. Цель исследования – изучить особенности клеточного иммунитета у детей, инфицированных вирусом герпеса человека 6 типа и у детей, имеющих микст-инфицирование вне обострения. Установлено, что при инфицировании герпетическими вирусами, не зависимо от моно- или микст инфицирования, при отсутствии острых клинических проявлений имеет место снижение содержания CD3⁺CD4⁺ Т лимфоцитов.

Ключевые слова: герпесвирусы, клеточный иммунитет, дети

DOI: 10.31857/S102872210002663-4

Авторы:

Соловьева И. Л., д. м. н., профессор ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия;

Галич Е. Н., аспирант, ассистент кафедры педиатрии ФГБОУ ВО «Ульяновский Государственный Университет», Ульяновск, Россия;

Костинов М. П., д. м. н., профессор, зав. лабораторией вакцинопрофилактики и иммунотерапии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, РФ; профессор кафедры эпидемиологии ИПО Первого МГМУ им. И. М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия;

Кусельман А. И., д. м. н., профессор, зав. кафедрой педиатрии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск.

Соловьева А. А., студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия;

Антохина Ю. В., студентка медицинского факультета ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», Ульяновск, Россия;

Гушина А. А., врач-лаборант, ГУЗ «Областная детская клиническая больница им. Горячева», Ульяновск, Россия;

Стенюшкина М. А., врач-лаборант, ГУЗ «Областная детская клиническая больница им. Горячева», Ульяновск, Россия;

Безик В. В., заведующая инфекционно-боксовым отделением, ГУЗ «Областная детская клиническая больница им. Горячева», Ульяновск, Россия.

Введение. Герпетические инфекции – одна из важных проблем в педиатрической практике. Инфицированность вирусами герпеса к 15 годам достигает 97–98%. (Каражас Н. В. и др., 2012). Именно герпетические инфекции обуславливают возникновение рецидивирующей ЛОР-патологии, внезапной экзантемы, лихорадки с судорожным синдромом, инфекционного мнуклеоза, рассеянного склероза, синдрома хронической усталости (СХУ). Кроме того, герпетические инфекции являются ко-фактором онкологических и лимфопролиферативных заболеваний, так как инфицированные клетки, могут малигнизироваться и вызывать рост злокачественных новообразований (А. И. Кусельман и др, 2017). Одним из представителей семейства *Herpesviridae* является вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ 6 типа). В настоящее время он все больше интересует ученых и клинических докторов. Рецидивирование инфекции обычно наблюдается у людей, страдающих комбинированным иммунодефицитом (Ушкалова Е. А., 2004). Длительная персистенция герпесвирусов сопровождается дефектом Т-клеточного звена (Hoek R. M., 2000) и выраженным нарушением продукции иммунорегуляторных цитокинов с преобладанием Т-хелперов 2 типа. Недостаток продукции ИЛ-2 способствует хронизации вирусной инфекции (Кравченко Л. В. 2009). Ис-

следования были проведены у взрослых, однако, данных о состоянии клеточного иммунитета у детей недостаточно.

Цель исследования: изучить особенности клеточного иммунитета у детей, инфицированных вирусом герпеса человека 6 типа и у детей, имеющих микст-инфицирование вне обострения.

Материалы и методы. Выделены группы наблюдения: 1 группа – дети с моно-инфицированием ВГЧ-6 типа (n=80), 2 группа – дети, имеющие микст-инфицирование герпетическими вирусами (n=80), 3 группа – здоровые дети, не имеющие признаков инфицирования (n=45). (Протокол № 12 этического комитета от 7 декабря 2016 г., Ульяновский Государственный Университет)

Для верификации инфицирования использованы методы выявления специфических IgM и IgG – ИФА тест-системами АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) – ВПГ 1,2; ННВ-6, 7, 8; ЦМВ; ВЭБ. Обнаружение ДНК вирусов группы герпес производилось методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Исследование показателей клеточного иммунитета проведено на мульти лазерной диагностической системе проточной цитофлуометрии CyFlow Space (Partec GmbH, Германия). Статистическую обработку полученных данных проводили с применением Statistica 10. Оценку достоверности различий осуществляли с помощью параметрических методов. Достоверными различия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Проведенные исследования показали, что основные субпопуляции клеточного звена иммунитета не имели существенных различий во всех группах наблюдения ($p > 0,05$). Важно отметить, что все дети на момент исследования не имели острых клинических проявлений, тем не менее было установлено, что уровень CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов в группе детей, инфицированных ВГЧ 6 типа и в группе детей, имеющих сочетанное инфицирование герпетическими вирусами, был достоверно ниже по сравнению со здоровыми детьми не имеющих инфицирования ($p < 0,05$). Возможно, это связано с тропизмом герпетических вирусов к Т- и В-клеткам, поскольку известно, что лучше всего патогены размножаются в клетках с фенотипом CD3⁺CD4⁺ (5), и репликативная инфекция может также запускать апоптоз активированных CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитов в культуре клеток. (Кравченко Л. В. 2009). Таким образом, установлено, что при инфицировании герпети-

ческими вирусами, не зависимо от моно- или микст инфицирования, при отсутствии острых клинических проявлений, имеет место снижение содержания CD3⁺CD4⁺ Т лимфоцитов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Каражас Н. В., Малышев Н. А., Рыбалкина Т. Н., Калугина М. Ю., Бошняк Р. Е., Кистенева Л. Б., Мазанкова Л. Н., Выжлова Е. Н., Васильев А. Н. Современные аспекты герпесвирусной инфекции. Эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Методические рекомендации. Москва, 2013. С. 128. [Karazhas N. V., Malyshev N. A., Rybalkina T. N., Kalugina M. Yu., Boshyan R. E., Kisteneva L. B., Mazankova L. N., Vyzhlova E. N., Vasiliev A. Modern aspects of herpesvirus infection. Epidemiology, Clinic, Diagnosis, Treatment and Prevention. Guidelines. Moscow 2013. P.128.]
2. Кусельман А. И., Соловьева И. Л., Черданцев А. П. Герпесвирусные инфекции у детей. Ульяновск, 2017. С. 24. [Kuselman A. I., Solovyeva I. L., Cherdantsev A. P. Herpes virus infections in children. Ulyanovsk, 2017. P.24.]
3. Hoek R. M. et al. Down-regulation of the macrophage lineage through interection with OX-2 (CD200)/ Science. 2000; 290. P. 1768–1771.
4. Кравченко Л. В., Афонин А. А., Демидова М. А. Нарушение иммунной системы при герпесвирусной инфекции. Детские инфекции. 2009; 1. С.33–36. [Kravchenko L. V., Afonin A. A., Demidova M. A. Disturbance of the immune system with herpesvirus infection. Children's infections. 2009; 1. P. 33–36]
5. Ушкалова Е. А. Генитальный герпес: этиология, патогенез, лечение. Фарматека. 2004; 11 (88). С. 1–6. [Ushkalova E. A. Genital herpes: etiology, pathogenesis, treatment. Pharmatec. 2004; 11 (88). P. 1–6.]
6. Марданлы С. Г., Курпичникова Г. И., Неверов В. А. Герпетическая инфекция. Этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, лабораторная диагностика. Электрогорск, 2011. С. 8. [Mardanly S. G., Kirpichnikova G. I., Neverov V. A. Herpetic infection. Etiology, epidemiology, pathogenesis, clinic, laboratory diagnostics. Elektrogorsk, 2011. P. 8.]

CONDITION OF CELLULAR IMMUNITY IN CHILDREN INFECTED WITH HUMAN HERPES VIRUS TYPE 6

© 2018 I. L. Solovyeva¹, E. N. Galich¹, M. P. Kostinov^{3,4}, A. I. Kuselman¹, A. A. Solovyeva¹, Y. V. Antokhina¹, A. A. Gushchina², M. A. Stenyushkina², V. V. Bezik²

*E-mail: kate-reznikova@mail.ru

¹FGBOU Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

²State Children's Hospital "Regional Children's Clinical Hospital of Goryachev", Ulyanovsk, Russia;

³FGBNU «Scientific Research Institute of Vaccines and Sera. I. I. Mechnikov, Moscow, Russia;

⁴FGBOU VO «The First Moscow State Medical University. THEM. Sechenov» MH RF, Moscow, Russia

The system of cellular immunity plays an important role in the development of the immune response in herpetic infection. It is proved that cellular mechanisms determine the nature of the course, frequency and intensity of recurrences of herpetic infection. Features of cellular immunity in recurrent herpetic infection are studied mainly in adults, while among children such studies are not enough. The purpose of the study was to examine the features of cellular immunity in children infected with the human herpes virus type 6 and in children who have mixed infection without exacerbation. It was found, when infected with herpes viruses, regardless of mono- or mixed infections, in the absence of acute clinical manifestations, there is a decrease in CD3⁺CD4⁺ T lymphocyte count.

Key words: herpesviruses, cellular immunity, children

Authors:

Solovyeva I. L., Doctor of Medical Sciences, Professor of FGBOU VO «Ulyanovsk State University», Ulyanovsk, Russia;

Galich E. N., Assistant of the Department of Pediatrics, FGBOU VO «Ulyanovsk State University»; postgraduate student of Pediatrics Department, Ulyanovsk, Russia;

Kostinov M. P., Doctor of medical science, professor, head Laboratory of Vaccine Prophylaxis and Immunotherapy of the FGBNU NIIVS them. I. I. Mechnikova, Moscow, Russia; Professor of the Department of Epidemiology IPO First Moscow State Medical University. THEM. Sechenov Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia;

Kuselman A. I., Doctor of medical sciences, professor, head. Department of Pediatrics FGBOU VO «Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

Solovyeva A. A., a student of the medical faculty of the FGBU VO «Ulyanovsk State University», Ulyanovsk, Russia;

Antokhina Y. V., a student of the medical faculty of the FGBU VO «Ulyanovsk State University», Ulyanovsk, Russia;

Gushchina A. A., a laboratory assistant, the Regional Children's Clinical Hospital. Goryachev, Ulyanovsk, Russia;

Stenyushkina M. A., a laboratory assistant, the Regional Children's Clinical Hospital. Goryachev, Ulyanovsk, Russia;

Bezik V. V., head of the infectious-box department, the Regional Children's Clinical Hospital. Goryachev, Ulyanovsk, Russia.