



Безопасность, иммуногенность и защитная активность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян *Rapio hamadryas*

Д.Т. Кубрава², А.Ю. Медкова^{1,✉}, А.З. Матуа², И.Г. Конджария², А.А. Амичба²,
Х.З. Трапш², Л.В. Гамгия², С.В. Куликов¹, Л.Н. Синяшина¹, З.Я. Миквабия²,
Г.И. Каратаев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Гамалеи, д. 18, Москва, 123098, Российская Федерация

² Государственное научное учреждение «Институт экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии», Гора Трапещия, д. 17, Сухум, 384900, Абхазия

✉ Медкова Алина Юрьевна; baburida@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Прогрессивный рост заболеваемости и младенческой смертности от коклюша обусловлен недостаточной эффективностью существующих вакцин как в России, так и в мире. Ранее разработанная в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России живая рекомбинантная коклюшная вакцина интраназального применения ГамЖВК в клинических исследованиях с участием взрослых добровольцев продемонстрировала формирование длительного противобактерийного иммунитета. Для продолжения клинических исследований данной вакцины с участием добровольцев детского возраста, в том числе младенцев, необходимо проведение доклинических исследований ГамЖВК на экспериментальной модели новорожденных детенышей обезьян.

ЦЕЛЬ. Изучение безопасности и иммуногенности вакцины ГамЖВК при интраназальной иммунизации детенышей обезьян *Rapio hamadryas* и ее противобактерийной защитной активности от экспериментальной коклюшной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В работе использовали 20 обезьян вида павианов гамадрилов: 7 детенышей возрастом 1–1,5 мес., 7 матерей и 6 обезьян контрольной группы. Определяли динамику изменения количества специфических антител класса IgG к коклюшному токсину и филаментозному гемагглютиниру (КТ+ФГА) в сыворотках крови животных методом ИФА и антител к антигенам *Bordetella pertussis* в реакции агглютинации (РА). ДНК *B. pertussis* в аспиратах регистрировали методом ПЦР в реальном времени.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Интраназальное введение вакцины ГамЖВК детенышам обезьян сопровождается продукцией специфических антител класса IgG (КТ+ФГА), увеличением титра общих противокклюшных антител в РА и не вызывает местных и общих реакций организма, а также изменений в общем и биохимическом анализах крови. Защитная активность исследуемой вакцины против экспериментальной коклюшной инфекции выражается отсутствием клинико-лабораторных признаков коклюша у иммунизированных животных по сравнению с группой контроля.

ВЫВОДЫ. Показана безопасность и иммуногенность живой коклюшной вакцины интраназального применения ГамЖВК у новорожденных детенышей обезьян павианов гамадрилов. ГамЖВК представляется перспективной для ранней вакцинации младенцев, ревакцинации детей и взрослых, формирования коллективного семейного иммунитета против коклюша.

Ключевые слова: коклюш; живая коклюшная вакцина; интраназальное применение; обезьяны; павианы гамадрилы; *Papio hamadryas*; экспериментальная модель; иммуногенность; безопасность; защитная активность

Для цитирования: Кубрава Д.Т., Медкова А.Ю., Матуа А.З., Конджария И.Г., Амичба А.А., Трапш Х.З., Гамгия Л.В., Куликов С.В., Синяшина Л.Н., Миквабия З.Я., Каратаев Г.И. Безопасность, иммуногенность и защитная активность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян *Papio hamadryas*. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2024;24(4):363–376. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-4-363-376>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания «Клиническое исследование инновационной живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша у взрослых и доклиническое изучение ее безопасности и иммуногенности на экспериментальной модели младенцев вида павиана гамадрила», № госрегистрации 121031700333-6.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Safety, immunogenicity, and protective efficacy of the intranasal live pertussis vaccine GamLPV in an infant monkey model (*Papio hamadryas*)

Dzhenni T. Kubrava², Alisa Yu. Medkova^{1,✉}, Alice Z. Matua², Irina G. Kondzariya²,
Astanda A. Amichba², Khamida Z. Trapsh², Lana V. Gamgiya², Sergey V. Kulikov¹,
Lyudmila N. Sinyashina¹, Zurab Ya. Mikvabiya², Gennadiy I. Karataev¹

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, 18 Gamaleya St., Moscow 123098, Russian Federation

² Research Institute of Experimental Pathology and Therapy, Academy of Sciences of Abkhazia, 17 Mount Trapezia, Sukhum 384900, Abkhazia

✉ Alisa Yu. Medkova; baburida@yandex.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. The current progressive increase in pertussis incidence and infant mortality rates is due to the insufficient effectiveness of existing vaccines, both in Russia and worldwide. Previous clinical trials showed that healthy adult volunteers developed long-term antibacterial immunity after vaccination with GamLPV, an intranasal recombinant live pertussis vaccine developed by the National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N. F. Gamaleya. Further clinical development of GamLPV in paediatric volunteers, including infants, requires preclinical studies in a newborn monkey model.

AIM. This study aimed to evaluate the safety, immunogenicity, and protective efficacy of the GamLPV vaccine in infant hamadryas baboons (*Papio hamadryas*) challenged with pertussis after intranasal vaccination.

MATERIALS AND METHODS. The study used 20 hamadryas baboons, including 7 infants aged 1–1.5 months, 7 mothers of these infants, and 6 control animals. The study examined the time course of changes in serum levels of specific IgG antibodies to pertussis toxin (PT) and filamentous haemagglutinin (FHA) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), monitored changes in serum levels of *Bordetella pertussis* antibodies by agglutination immunoassay, and detected *B. pertussis* DNA in oropharyngeal aspirates by real-time polymerase chain reaction.

RESULTS. Intranasal GamLPV administration to infant baboons induced the production of specific IgG antibodies to PT and FHA (ELISA) and an increase in the total pertussis antibody titre (agglutination immunoassay). GamLPV did not cause any injection site or systemic reactions. There were no changes in complete blood counts and serum biochemistry profiles after vaccination. The protective efficacy of GamLPV against *B. pertussis* was demonstrated in challenge tests, where immunised animals had no clinical signs or laboratory findings indicative of pertussis in contrast to controls.

CONCLUSIONS. The study demonstrated the safety and immunogenicity of the intranasal live pertussis vaccine GamLPV in newborn hamadryas baboons. GamLPV shows promise in the

primary vaccination of infants, the revaccination of children and adults, and the development of herd immunity against pertussis in families.

Keywords: pertussis; live pertussis vaccine; intranasal administration; monkeys; hamadryas baboons; *Papio hamadryas*; experimental model; immunogenicity; safety; protective efficacy

For citation: Kubrava D.T., Medkova A.Yu., Matua A.Z., Kondzariya I.G., Amichba A.A., Trapsh Kh.Z., Gamgiya L.V., Kulikov S.V., Sinyashina L.N., Mikvabiya Z.Ya., Karataev G.I. Safety, immunogenicity, and protective efficacy of the intranasal live pertussis vaccine GamLPV in an infant monkey model (*Papio hamadryas*). *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2024;24(4):363–376. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2024-24-4-363-376>

Funding. This study was funded under State Assignment 'A clinical trial of an innovative intranasal live vaccine for the prevention of pertussis in adults and a non-clinical study of the safety and immunogenicity of the vaccine in an infant hamadryas baboon model' (R&D Registry No. 121031700333-6).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Коклюш — высококонтагиозное инфекционное респираторное заболевание человека, вызываемое граммотрицательными бактериями *Bordetella pertussis* (*B. pertussis*). Несмотря на успехи вакцинопрофилактики коклюш продолжает оставаться серьезной проблемой для здравоохранения во всем мире. Заболеванию коклюшем подвержены все возрастные группы населения, а клинически манифестные формы с типичными «классическими» проявлениями нередко тяжело переносят и взрослые люди. Наиболее опасен коклюш для новорожденных и детей первого года жизни, на долю которых приходится основная часть связанных с заболеванием госпитализаций и летальных исходов.

По оценкам ВОЗ, в разные годы в мире регистрируется 20–40 млн случаев коклюша и 300 тыс. летальных исходов, 95% из которых — в развивающихся странах¹. В 2014 г. зарегистрировано 24,1 млн случаев коклюша, из которых 33% пришлось на Африку [1]. За последние 10 лет эпидемические вспышки коклюша наблюдались каждые 3–5 лет, а в период с 2008 по 2015 г. были значительные всплески случаев коклюша в различных странах, включая США, Канаду, Австралию, Великобританию, Нидерланды и Японию [2].

В Российской Федерации в период с 1991 по 2000 г. зарегистрировано 69, с 2001 по 2010 г. — 18 [3], а в 2023 г. — 10 летальных исходов от коклюша. По ориентировочным расчетам, в Российской Федерации экономический ущерб от коклюша за 2017 г. составил 185 млн рублей, а в 2018 г. превысил 600 млн рублей².

Разработка и внедрение в практику здравоохранения цельноклеточных коклюшных вакцин

(ЦКВ) во второй половине XX века снизили заболеваемость до единичных случаев на 100 тыс. населения. Эпидемиологический эффект от вакцинации позволил отнести коклюш к категории управляемых инфекций. В то же время наряду со снижением заболеваемости коклюшем многолетняя массовая иммунизация ЦКВ позволила выявить нежелательные, часто преувеличенные побочные реакции и поствакцинальные осложнения. Последнее обстоятельство привело в ряде стран к отмене вакцинации против коклюша в 90-х гг. XX века и, как следствие, к резкому увеличению заболеваемости, в том числе тяжелыми формами с летальным исходом. В конце 1990-х — начале 2000-х гг. в экономически развитых странах введено массовое использование бесклеточных компонентов коклюшных вакцин (БКВ) в составе АКДС. С началом вакцинации в ряде стран Европы, США и Австралии, где охват детского населения прививками составляет более 95%, стал отмечаться рост заболеваемости коклюшем, приближающийся в отдельные годы к уровню довакцинного периода [2]. При этом уровень диагностики коклюша в этих странах оценивают в 5–10% от реальной заболеваемости.

Поствакцинальный иммунитет, индуцированный современными БКВ, оказался недостаточно напряженным и продолжительным, что привело к росту числа восприимчивых к возбудителю коклюша подростков и взрослых. Рост числа случаев атипичных форм заболевания затрудняет диагностику коклюша. Наличие неконтролируемого источника коклюшной инфекции, особенно в семьях с новорожденными и в детских организованных коллективах, диктует необходимость введения максимально ранней вакцинации

¹ Global health observatory data. WHO; 2020.

² Государственный доклад о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 г.

младенцев и ревакцинации всех возрастных групп населения. Однако в настоящее время вакцинацию против коклюша БКВ или ЦКВ начинают не ранее двух-трехмесячного возраста, а для ревакцинации рекомендована только БКВ, не способная обеспечить защиту организма от размножения и передачи бактерий [4].

Альтернативой ЦКВ и БКВ может быть разработанный в ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России препарат ГамЖВК (живая коклюшная вакцина) для интраназального применения на основе рекомбинантных аттенуированных бактерий возбудителя коклюша [5]. Аналогичная рекомбинантная живая коклюшная вакцина (BPZE1) разработана во Франции [6, 7]. Обе вакцины прошли клинические исследования с участием взрослых добровольцев. Вакцина ГамЖВК готовится к регистрации в качестве препарата для ревакцинации взрослых.

Для продолжения клинических исследований ГамЖВК с участием добровольцев детского возраста, в том числе младенцев, нами проведены исследования на детенышах обезьян вида павиан гамадрил. В предыдущей публикации авторы описали разработку экспериментальной модели коклюшной инфекции на новорожденных детенышах павианов гамадрилов и предварительные результаты изучения безопасности и иммуногенности многократного интраназального введения ГамЖВК новорожденным обезьянам [8].

Цель работы – изучение безопасности и иммуногенности вакцины ГамЖВК при интраназальной иммунизации детенышей обезьян *Papio hamadryas* и ее противобактерийной защитной активности от экспериментальной коклюшной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

В работе использовали следующие материалы:

- лиофильно высушенный препарат ГамЖВК (живая коклюшная вакцина интраназального применения для профилактики коклюша), приготовленный на производстве ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, содержащий 5×10^9 живых аттенуированных бактерий *B. pertussis* 4MKS [5];
- вирулентные бактерии *B. pertussis* 475. Суспензию культуры вирулентных бактерий *B. pertussis* 475 готовили непосредственно перед введением. Бактерии культивировали на среде КУА – казеино-угольный агар (производство филиала «Медгамал» ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России) с добавлением дефибрированной бараньей крови

(АО «Эколаб»), в течение 24–36 ч, смывали 0,85% раствором натрия хлорида для приготовления суспензии по стандарту оптической плотности, равной 50–100 МОЕ (по фармакопейному стандартному образцу мутности бактериальных взвесей, полученного от ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России). Количество живых бактерий *B. pertussis* 475 оценивали методом для определения КОЕ на среде КУА с кровью при культивировании в течение 3–4 сут. Культура с мутностью 50 МОЕ соответствовала $(1-2) \times 10^{10}$ КОЕ/мл;

- биологический материал со слизистых оболочек верхних дыхательных путей обезьян вида *Papio hamadryas* – назофарингеальные мазки и ротоглоточные аспираты получали от детенышей и их матерей с помощью назофарингеальных зондов и ротоглоточных тампонов;
- цельная кровь и сыворотка крови, полученные от детенышей и их матерей. Забор крови у детенышей осуществляли из паховой вены при помощи шприца, у неполовозрелых животных – иглой-бабочкой для вакуумного забора крови из локтевой вены, у половозрелых особей – двухсторонней иглой для вакуумного забора крови из локтевой вены утром натощак.

Кровь и аспираты от детенышей, их матерей и обезьян контрольной группы отбирали по описанной ранее схеме с использованием наркоза и прижимных клеток [9].

Экспериментальные животные

В эксперимент было включено 20 павианов гамадрилов разного возраста: 7 детенышей в возрасте 1–1,5 мес., 7 молодых половозрелых самок в возрасте 6–10 лет и по 3 особи в каждой контрольной группе (итого 6) в возрасте 2 и 6–10 лет. Детеныши были рождены и содержались в период эксперимента вместе с их матерями в питомнике при ГНУ «ЭПИТ АНА» (Абхазия). Животные контрольной и опытной групп содержались в разных помещениях экспериментального корпуса в индивидуальных клетках из нержавеющей стали, оборудованных кормушкой и сосковой поилкой, держателем для этикетки, при контролируемых условиях окружающей среды (температура 20–25 °С, относительная влажность 60–70%). В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения. Животные имели свободный доступ к воде и корму. Обезьяны находились на типовом рационе, разработанном в ГНУ «ЭПИТ АНА»: брикетированный корм, сбалансированный по содержанию белков, жиров,

углеводов, витаминов, минеральному составу, с добавкой овощей, фруктов и зелени.

Данная исследовательская работа была одобрена приматологической комиссией ГНУ «ИЭПИТ АНА» от 24.12.2019 и утверждена как Тема НИР 1.8. «Оценка безопасности и иммуногенности рекомбинантной живой коклюшной вакцины на экспериментальной модели детенышей павианов гамадрил» Академией наук Абхазии.

Все обезьяны на начало эксперимента находились в состоянии клинического и соматического здоровья, были серонегативны к антигенам *B. pertussis*. В рото- и носоглотке не было выявлено ДНК *B. pertussis*. Беременные самки находились под наблюдением до и после рождения детенышей. В ходе эксперимента ни одна обезьяна не пострадала.

Методы

Иммунизация и экспериментальная инфекция детенышей и взрослых животных

Манипуляции с детенышами обезьян и их матерями проводили в соответствии с ранее разработанными и описанными нами условиями [8]. Перед началом эксперимента осуществляли загон матери с детенышем в прижимную клетку. Мать усыпляли, а детеныша переносили в манипуляционную комнату для осуществления всех требуемых процедур. Перенос детеныша и все манипуляции контролировались ветеринарным врачом. Манипуляции со спящей матерью (взятие мазков, крови, осмотр врачом) проводили в отдельной комнате. Детеныш возвращался к матери до ее пробуждения. Матери с детенышами, участвующие в эксперименте, находились в общем помещении (загоне), отдельно от остальных членов семей на протяжении всего времени наблюдения.

За состоянием здоровья экспериментальных обезьян наблюдали при ветеринарном осмотре, включающем термометрию, взвешивание, осмотр слизистых оболочек, оценку состояния ротоглотки и наблюдение за поведением животных. Экспериментальную работу с животными проводили в соответствии с ГОСТ 33218-2014³ и правилами работы с лабораторными животными [10].

Обследование обезьян-матерей и их детенышей включало:

- клинический и биохимический анализ крови, анализ сыворотки крови на наличие антител к бактериям *B. pertussis*, физикальный осмотр ротоглотки и взвешивание;

- взятие мазков из зева и носоглотки для ПЦР анализа;
- взвешивание детенышей, их осмотр ветеринарным врачом, определение общего соматического здоровья, состояния ротоглотки, поведения и реакций на внешние факторы.

За поведением матерей и их детенышей наблюдали на протяжении всего срока эксперимента.

Иммунизацию, взятие крови и назофарингеальных мазков у детенышей проводили без наркоза. Обезьян-матерей и обезьян контрольной группы усыпляли внутримышечным введением 0,03–0,04 мл золетила (Virbac, Франция) в концентрации 100 мг/мл (с премедикацией ксилазингидрохлоридом 20 мг/мл).

Интраназальное введение животным препарата ГамЖВК и вирулентных бактерий *B. pertussis*. Непосредственно перед введением во флакон с препаратом ГамЖВК добавляли 0,6 или 1,0 мл стерильного 0,85% раствора натрия хлорида в зависимости от возраста животных. Лиофилизат растворяли в течение 1 мин, слегка встряхивая флакон, после чего вводили суспензию интраназально по 0,3–0,5 мл в каждую ноздрю через шприц объемом 2 мл (без иглы).

Суспензию вирулентных бактерий *B. pertussis*, содержащую $(2-5) \times 10^{10}$ КОЕ, вводили по 0,5 мл в каждую ноздрю под наркозом.

Анализ сыворотки крови на присутствие специфических иммуноглобулинов проводили с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) в модификации [8]. В реакции прямой агглютинации использовали набор «Диагностикум коклюшный жидкий» (Биомед, Россия).

ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ) применяли для количественного определения ДНК *B. pertussis* в аспиратах и назофарингеальных мазках. Для молекулярно-генетического анализа использовали ДНК *B. pertussis*, выделенную из смывов с заднеглоточных и назофарингеальных зондов. Осадки из этих препаратов после центрифугирования обрабатывали раствором гуанидинтиоцианата с последующей сорбцией ДНК на магнитном сорбенте «Wizard® Magnetic DNA Purification System» (Promega, США) [11, 12]. Для определения количества геном-эквивалентов (ГЭ) ДНК *B. pertussis* в образцах использовали разработанную и валидированную нами тест-систему на основе ПЦР РВ [11, 12]. Амплификатор нуклеиновых кислот CFX96 Touch (Bio-Rad, США) использовали для постановки ПЦР РВ.

³ ГОСТ 33218-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за нечеловекообразными приматами.

Общий анализ крови (ОАК) выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе Mindray BC-3600 (Mindray, КНР).

Биохимический анализ образцов сыворотки крови (БАК) выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе Horiba ABX Pentra 200 (Horiba ABX, Франция).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение безопасности интраназального введения препарата ГамЖВК детенышам обезьян

Детенышам возрастом 1–1,5 мес. проводили первичную иммунизацию (V1) и две реиммунизации (V2 и V3) с интервалом в 2 мес. Через 12 мес. после второй реиммунизации детенышей экспериментально инфицировали изогенными вирулентными бактериями возбудителя коклюша *B. pertussis* 475.

Критериями оценки безопасности препарата ГамЖВК и последующего введения вирулентных бактерий *B. pertussis* 475 служило отсутствие достоверных отклонений от средних показателей возрастных норм для данного питомника и значений показателей, определенных до введения препарата, а также состояние здоровья обезьян (отсутствие местных реакций, потеря веса и изменение поведения).

Биоматериал собирали в динамике в следующие сроки: перед иммунизацией, через 1 ч после нее (мазок), далее – через 3, 7, 14, 21, 28, 42 сут и 2 мес. Аналогичные сроки соблюдали после каждой последующей иммунизации. В те же сроки, кроме точки «1 час» после введения препарата, забирали биоматериал и у обезьян-матерей. Дополнительно определяли содержание антител и бактериальную нагрузку в мазках со слизистой оболочки носоглотки через 6 мес. после третьей реиммунизации и непосредственно перед введением вирулентных бактерий.

Основной акцент в ОАК и БАК был сделан на анализе лейкоцитарного ростка, в частности, определяли соотношение лимфоцитов и нейтрофилов, СОЭ, глюкозы, а также активности аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) аминотрансфераз. В процессе текущего исследования выявлен ряд особенностей работы с детенышами обезьян месячного возраста. К ним можно отнести сложность взятия достаточного количества крови для полного ОАК, БАК, сыворотки крови для ИФА и реакции агглютинации, особенно после первого введения вакцины. Второе важное обстоятельство – физиологический стресс у детенышей обезьян, ранее не подвергавшихся обследованию: стресс способен влиять на значения некоторых показателей крови. Вероятно, в силу этих причин измеренные

значения количества лимфоцитов и глюкозы сильно варьировали от особи к особи. Эти особенности, а также небольшое количество обезьян в эксперименте и отсутствие четких представлений о норме для данного вида и возраста животных (детеныши-груднички) затрудняло оценку статистической значимости выявленных отклонений. По этой причине для анализа динамики изменения параметра использовали значение K_p , равное отношению абсолютных значений в сравниваемой точке и до введения препарата. Изменения параметра K_i считали статистически значимыми при значении $K_i \geq 2$ в контрольных точках.

Значимые различия у иммунизированных детенышей не были выявлены при использовании описанного алгоритма для характеристики динамики изменения параметров ОАК и БАК. Не было зарегистрировано значимых отклонений в содержании лейкоцитов крови и их популяций (лимфоциты и нейтрофилы) или уменьшения содержания глюкозы, так же как и в предыдущих исследованиях на обезьянах [8, 13] и клинических исследованиях [14].

После экспериментальной инфекции вирулентными бактериями неполовозрелых животных контрольной группы, как и в предыдущих экспериментах [8, 9, 13], отмечен достоверный более чем двукратный рост содержания лимфоцитов крови на 14–21 сут. У двух обезьян контрольной группы рост содержания лимфоцитов составил 4,7 и 5,6 раза, а у одной – увеличился в два раза.

Не было зарегистрировано достоверного снижения содержания глюкозы у иммунизированных детенышей после экспериментальной инфекции вирулентными бактериями. Также не было выявлено снижения содержания глюкозы у неполовозрелых обезьян контрольной группы, в отличие от предыдущих экспериментов [8, 9, 13]. Можно предположить, что отсутствие выраженной гипогликемии у животных контрольной группы связано с режимом питания или с упомянутым выше стрессом у молодых животных.

У двух из трех детенышей контрольной группы на 7 сут после инфекции был отмечен примерно 10-кратный рост показателей активности АЛТ от 70 до 850 и от 100 до 863 Ед/мл и АСТ от 79 до 790 и от 35 до 410 Ед/мл в сравнении со значениями показателей до экспериментального заражения вирулентными бактериями. Спустя неделю показатели активности АЛТ и АСТ возвращались к исходным. Остальные биохимические показатели анализа крови оставались стабильными. После иммунизации

обезьян отклонений от фоновых показателей БАК не было зарегистрировано. Следует заметить, что нам неизвестно о каких-либо изменениях активности АЛТ и АСТ у детей или взрослых пациентов с коклюшем. Достоверное увеличение значений АЛТ и АСТ у обезьян и наличие такового у больных коклюшем детей и/или взрослых требует дальнейшего изучения.

После экспериментальной инфекции вирулентными бактериями обезьян-матерей, контактировавших с иммунизированными детенышами, не выявлено каких-либо изменений показателей ОАК и БАК. Тогда как у инфицированных взрослых животных контрольной группы ОАК позволил обнаружить достоверный рост содержания лимфоцитов на 14–28 сут после инфекции – в 2,2, 3,8 и 5,4 раза при стабильных значениях остальных показателей. По данным БАК было некоторое снижение содержания глюкозы после инфицирования взрослых животных контрольной группы вирулентными бактериями (в 2,0, 2,4 и 1,9 раза). Увеличение активности АЛТ и АСТ не было зарегистрировано.

Ветеринарное наблюдение за обезьянами на каждом из визитов, в том числе после экспериментальной инфекции, а также регулярное наблюдение за их поведением не выявило отклонений в состоянии здоровья и развитии детенышей после каждой иммунизации животных. Отсутствовали местные реакции в носоглотке животных после иммунизации и экспериментальной инфекции иммунизированных детенышей. Катаральные явления в виде гиперемии разной интенсивности и слизи в ротоглотке, аналогичные тем, что наблюдались в предыдущих экспериментах, были выявлены у инфицированных половозрелых и неполовозрелых обезьян контрольной группы.

Полученные результаты указывают на отсутствие симптоматики коклюша после иммунизаций, а стабильность параметров ОАК и БАК – на безопасность и хорошую переносимость живой коклюшной вакцины ГамЖВК при интраназальном применении у детенышей павиана гамадрила. Даже трехкратное интраназальное введение ГамЖВК детенышам обезьян в возрасте 1–1,5 мес. не приводило к значимым изменениям лабораторных показателей крови детенышей и их матерей, тогда как у детенышей контрольной группы наблюдался краткосрочный, но выраженный рост активности печеночных ферментов (АЛТ и АСТ) и содержания лимфоцитов. В процессе клинических исследований ГамЖВК на добровольцах и доклинических исследованиях на взрослых обезьянах также не было зарегистрировано достоверного

изменения содержания лимфоцитов, глюкозы и других показателей ОАК и БАК после одно-, двух- и трехкратного интраназального введения аттенуированных бактерий.

Отсутствие местных реакций и достоверных изменений показателей ОАК и БАК после экспериментальной инфекции иммунизированных детенышей и их матерей вирулентными бактериями *B. pertussis* 475 указывает на проявление защитного эффекта иммунизации детенышей обезьян от развития симптомов и последствий коклюшной инфекции.

Характеристики гуморального ответа, индуцированного иммунизацией младенцев павианов гамадрилов и контактировавших с ними матерей

Проведенные ранее исследования позволили выявить значимые изменения уровня специфических IgG и титров агглютинации в образцах сыворотки крови низших обезьян Старого Света, интраназально иммунизированных ГамЖВК или экспериментально инфицированных вирулентными бактериями возбудителя коклюша [8, 9, 13, 15, 16], а также взрослых добровольцев [14, 16]. На *рисунке 1* представлены результаты оценки содержания специфических IgG по значениям ОП образцов в лунках планшет-набора для ИФА в соответствии с предложенной нами модификацией после трех последовательных интраназальных введений ГамЖВК.

Результаты иммунизации были аналогичными ранее описанным для взрослых обезьян и добровольцев [8, 9, 13, 15, 16]. После первой иммунизации регистрировался медленный рост содержания специфических IgG к коклюшному токсину (КТ) и филаментозному гемагглютину (ФГА). Точки «3 сут» и «7 сут» на графике первой иммунизации не представлены, так как выработка антител класса IgG при первичной иммунизации происходила с 10–14 сут.

Повторные введения вакцины (реиммунизация V2 и V3) детенышам обезьян сопровождалась значительно более ранним началом увеличения содержания антител класса IgG в сыворотке крови. У всех детенышей значимый рост содержания IgG отмечали уже через неделю; максимальный рост был на 2–4 нед. К концу 6 и 12 мес. содержание антител снижалось, но оставалось значительно выше такового до иммунизации.

Изменения содержания IgG в сыворотке крови обезьян-матерей имели схожую динамику, и, в конечном итоге, содержание IgG приближалось к значениям у иммунизированных детенышей (результаты не представлены).

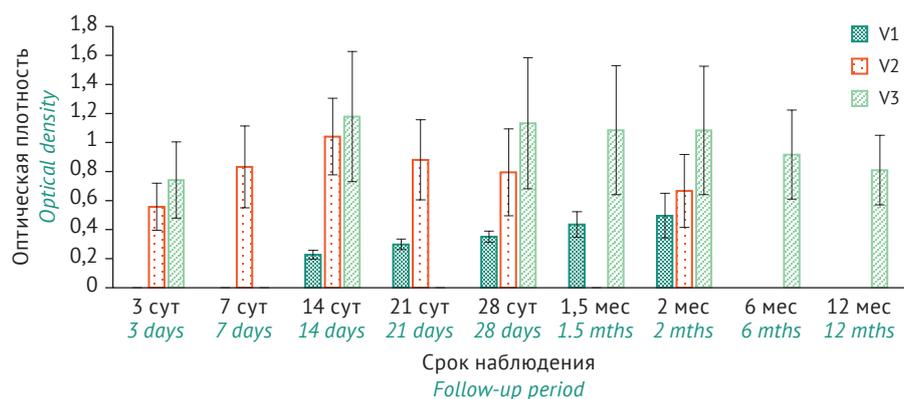


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Оценка содержания IgG по динамике изменения значений оптической плотности в сыворотке крови детенышей после каждой иммунизации по данным ИФА. По оси X – сроки наблюдения за детенышами от даты введения им ГамЖВК. По оси Y – измеренные значения оптической плотности образцов в лунках планшета. V1 – первичная иммунизация, V2 – первая реиммунизация, V3 – вторая реиммунизация детенышей.

Fig. 1. Assessment of serum IgG levels of infant baboons by optical density changes determined by ELISA after each vaccination. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since GamLPV administration. The Y-axis shows optical density values for samples in wells. V1, V2, and V3 stand for priming, first booster, and second booster vaccination of infant baboons.

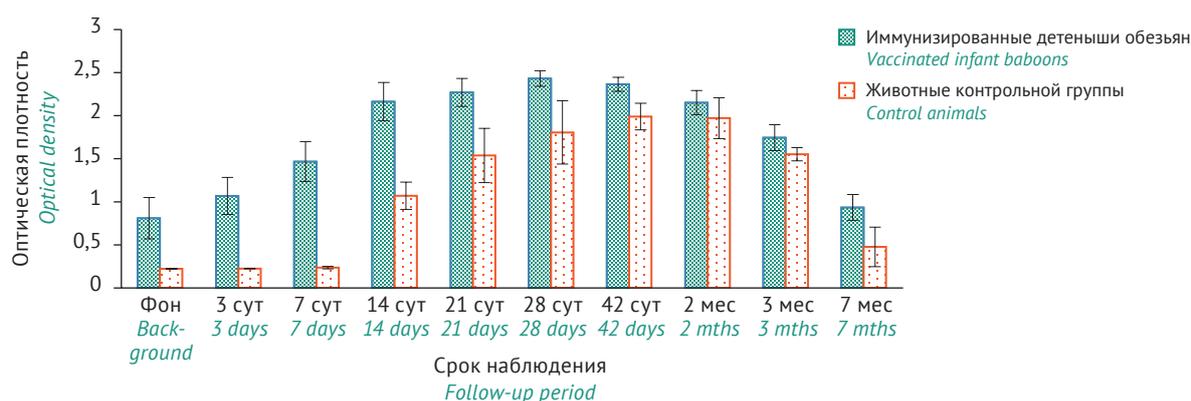


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Оценка содержания IgG по динамике изменения значений оптической плотности в сыворотке крови иммунизированных детенышей после экспериментальной инфекции по данным ИФА. По оси X – сроки наблюдения за детенышами от даты введения им вирулентных бактерий. По оси Y – измеренные значения оптической плотности образцов в лунках планшета.

Fig. 2. Assessment of serum IgG levels of vaccinated infant baboons by optical density changes determined by ELISA after challenge with virulent bacteria. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since challenge. The Y-axis shows optical density values for samples in wells.

Через 12 мес. после второй реиммунизации (V3) было проведено экспериментальное инфицирование животных вирулентными изогенами бактериями *B. pertussis* 475 (рис. 2, 3). В контрольной группе инфицировали 3 половозрелые и 3 неполовозрелые особи того же возраста, что и иммунизированные обезьяны к моменту экспериментальной инфекции вирулентными бактериями *B. pertussis* 475.

Содержание IgG после экспериментальной инфекции у иммунизированных детенышей, несмотря на значительное содержание перед инфицированием, начинает

увеличиваться уже на 3 сут после заражения и достигает максимума через 14–28 сут. У животных контрольной группы монотонный рост содержания IgG начинается на 14 сут и продолжается вплоть до 42–60 сут (рис. 2).

Интерес представлял также быстрый и значительный рост содержания антител класса IgG в сыворотке крови обезьян-матерей начиная с 3–7 сут при более медленном монотонном увеличении у животных контрольной группы с 28 сут (рис. 3).

Быстрое увеличение содержания специфических антител в сыворотке крови обезьян-матерей

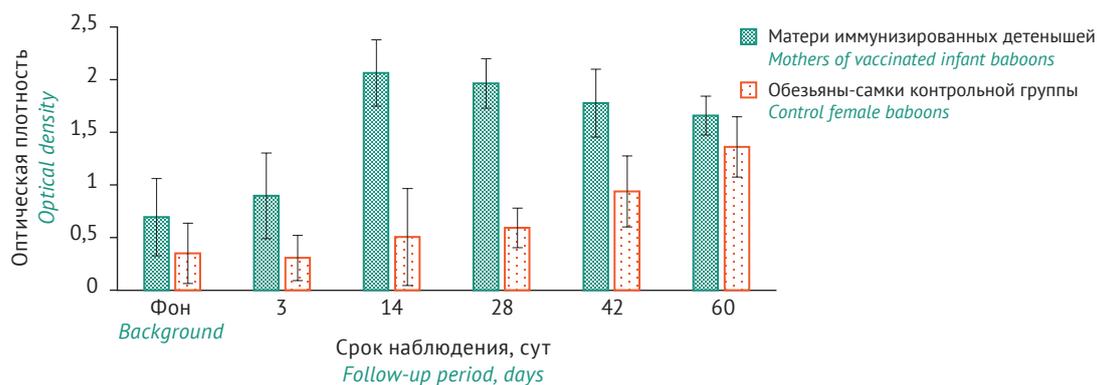


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Оценка содержания IgG по динамике изменения значений оптической плотности в сыворотке крови обезьян-матерей после экспериментальной инфекции по данным ИФА. По оси X – сроки наблюдения за обезьянами от даты введения вирулентных бактерий детенышам. По оси Y – измеренные значения оптической плотности образцов в лунках планшета.

Fig. 3. Assessment of serum IgG levels of baboon mothers by optical density changes determined by ELISA after challenge with virulent bacteria. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since challenge. The Y-axis shows optical density values for samples in wells.

после экспериментального инфицирования свидетельствует о пассивной иммунизации обезьян-матерей при тесном контакте с иммунизированными детенышами. Это подтверждается отсутствием нарушений каких-либо лабораторных показателей и клинических признаков коклюшной инфекции у обезьян-матерей после экспериментальной инфекции вирулентными бактериями.

Определение титров агглютинации с суспензией бактерий *B. pertussis* – один из используемых в настоящее время методов регистрации иммунного ответа. Значения титров агглютинации сыворотки крови иммунизированных детенышей и их матерей после экспериментального инфицирования демонстрируют аналогичную динамику с данными ИФА (результаты не представлены). Использование реакции агглютинации (РА) в большинстве случаев не выявило отличий от результатов, полученных с помощью ИФА, что можно было ожидать исходя из более широкого спектра антител к возбудителю коклюша, формирующих агглютинацию бактерий тест-штаммов в РА. Однако недостаточная воспроизводимость результатов РА, полученных с помощью разных серий наборов, указывает на их низкий уровень стандартизации и делает нецелесообразным использование РА при наличии наборов для ИФА.

Динамика размножения аттенуированных бактерий *B. pertussis* в носоглотке после интраназальной иммунизации младенцев павианов гамадрилов и их экспериментальном инфицировании

Напряженность и длительность формирования защитного иммунитета от коклюша после

вакцинации и/или перенесенной инфекции оценивают по наличию гуморального и клеточного противобактерийного ответа. Во втором случае при коклюше оценивают индуцированную продукцию интерферона (IFN) и интерлейкина-17 (IL-17) полиморфноядерными клетками крови [17]. Работа была проведена нами ранее в доклинических экспериментах со взрослыми обезьянами и в рамках клинических исследований на здоровых добровольцах. Однако наиболее адекватное представление о защитном потенциале препарата ГамЖБК, с нашей точки зрения, может дать сравнительный анализ времени элиминации вирулентных и/или аттенуированных бактерий *B. pertussis* у иммунизированных и нативных животных.

Предыдущие исследования гуморального ответа и динамики размножения/выведения бактерий *B. pertussis* из рото/носоглотки обезьян продемонстрировали, во-первых, общность наблюдаемой картины для вирулентных и аттенуированных бактерий, а во-вторых, выраженное сокращение времени выведения бактерий после первого и последующих интраназальных введений взрослым обезьянам [14, 16]. В настоящем разделе представлены результаты определения содержания ДНК бактерий *B. pertussis* в рото/носоглотке иммунизированных детенышей и их матерей на протяжении срока наблюдения, включая периоды после первичной иммунизации (V1), двух последующих реиммунизаций (V2 и V3) и экспериментальной инфекции вирулентными бактериями. В качестве контроля использованы неинфицированные взрослые обезьяны и детеныши.

Назофарингеальные аспираты однократно иммунизированных детенышей содержали ДНК возбудителя коклюша вплоть до повторной иммунизации через 2 мес. (рис. 4). После первой (V2) и второй (V3) реиммунизаций в аспиратах на 14 сут наблюдения ДНК была зарегистрирована только у одного иммунизированного детеныша, а к 28 сут и позднее ДНК не была обнаружена (рис. 5).

Отмечается нерегулярная динамика выявления ДНК аттенуированных бактерий *B. pertussis* у обезьян-матерей. Регистрируется до 10 ГЭ ДНК в аспиратах, взятых у 6 из 7 обезьян-матерей в период от 7 сут до 2 мес. (2 особи) после первого введения препарата младенцам (результаты не приведены). После второй иммунизации детенышей обезьян ДНК бактерий *B. pertussis* обнаружена только у двух обезьян-матерей на 21 сут, в значимо меньшем количестве, чем после первой иммунизации. После третьей иммунизации динамика, хотя и отличалась от динамики после второй иммунизации, в конечном итоге характеризовалась элиминацией бактерий почти у всех обезьян-матерей к 21–28 сут. Вполне вероятно, что на протяжении первых 7 сут в процессе плотного контакта с детенышами – носителями аттенуированных бактерий, происходи-

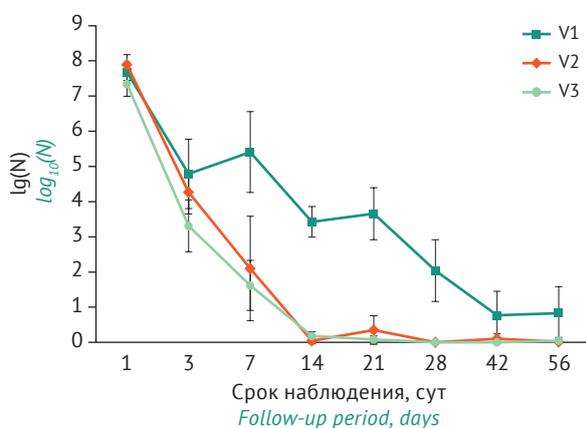


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 4. Динамика размножения (элиминации) аттенуированных бактерий *B. pertussis* в носо/ротоглотке иммунизированных детенышей обезьян после их иммунизации ГамЖВК. По оси X – сроки наблюдения за животными от даты первой иммунизации ГамЖВК. По оси Y – значения логарифма числа геном-эквивалентов ДНК *B. pertussis* в условном миллилитре раствора. V1 – первичная иммунизация, V2 – первая реиммунизация, V3 – вторая реиммунизация детенышей.

Fig. 4. Time-course of reproduction (elimination) of attenuated *Bordetella pertussis* bacteria in the nasopharynx/oropharynx of infant baboons after vaccination with GamLPV. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since the first GamLPV administration. The Y-axis shows \log_{10} values of the number of genome equivalents of *B. pertussis* DNA in a conventional mL of solution. V1, V2, and V3 stand for priming, first booster, and second booster vaccination of infant baboons.

ло инфицирование обезьян-матерей, достигшее максимума к 21 сут. Можно ожидать, что в результате передачи и, по-видимому, некоторого размножения аттенуированных бактерий наблюдалась пассивная иммунизация обезьян-матерей после первого введения бактерий детенышам. Наличие специфических антител и ДНК аттенуированных бактерий в организме обезьян-матерей, контактировавших с иммунизированными детенышами, позволило предположить наличие у них иммунитета, сформированного в результате трансмиссии аттенуированных бактерий от иммунизированных детенышей.

Для проверки этих предположений проведен анализ количества ГЭ бактерий *B. pertussis* после инфицирования вирулентными бактериями *B. pertussis* 475 всех участвующих в эксперименте животных (рис. 5).

Следует отметить, что к началу экспериментальной инфекции в аспиратах обезьян ДНК *B. pertussis* не была зарегистрирована. На 14 сут наблюдения у большинства иммунизированных детенышей произошла элиминация бактерий из носоглотки, тогда как у животных контрольной группы того же возраста число бактерий в назофарингеальных аспиратах практически

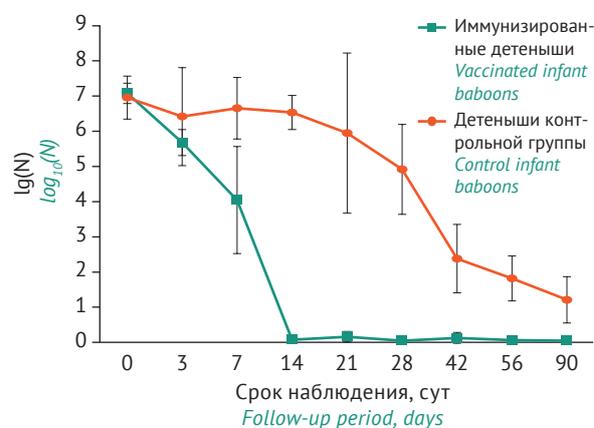


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 5. Динамика размножения (элиминации) вирулентных бактерий *B. pertussis* из носо/ротоглотки иммунизированных детенышей обезьян после экспериментальной инфекции. По оси X – сроки наблюдения за детенышами от даты экспериментальной инфекции. По оси Y – значения логарифма числа геном-эквивалентов ДНК *B. pertussis* в условном миллилитре раствора.

Fig. 5. Time-course of reproduction (elimination) of virulent *Bordetella pertussis* bacteria in the nasopharynx/oropharynx of vaccinated infant baboons after challenge with virulent bacteria. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since challenge. The Y-axis shows \log_{10} values of the number of genome equivalents of *B. pertussis* DNA in a conventional mL of solution.

не изменилось (рис. 5). Значительное изменение числа бактерий, исходя из динамики ГЭ ДНК *B. pertussis* у животных контрольной группы, зарегистрировано только на 42 сут после инфекции. ДНК бактерий обнаруживали в аспиратах до конца срока наблюдения.

Аналогичные результаты, полученные при изучении динамики изменения бактериальной нагрузки после экспериментальной инфекции обезьян-матерей и взрослых животных контрольной группы, представлены на рис. 6.

Некоторое отличие состоит в большем сроке элиминации вирулентных бактерий из носоглотки матерей в сравнении с детенышами. У обезьян-матерей ДНК возбудителя не обнаруживали в аспиратах после 21–28 сут, а у детенышей – после 14 сут экспериментальной инфекции. Динамика элиминации бактерий у детенышей контрольной группы и половозрелых особей практически не отличалась. Результаты анализа динамики элиминации аттенуированных и вирулентных бактерий у иммунизированных детенышей и их матерей указывают на значительное сокращение времени их выведения после экспериментальной инфекции иммунизированных детенышей. Большее время выведения вирулентных бактерий из носоглотки контактировавших матерей после экспериментального заражения в сравнении с трехкратно иммунизированными детенышами связано, вероятно, с меньшей напряженностью сформированного в процессе контакта противобактерийного иммунитета по сравнению с прямой иммунизацией.

Общая динамика развития инфекционного процесса и иммунного ответа, вызванного интраназальным введением изогенных вирулентных и аттенуированных бактерий возбудителя коклюша, у детенышей обезьян и половозрелых особей указывает на способность иммунной системы новорожденных детенышей адекватно реагировать на их иммунизацию и последующую экспериментальную инфекцию. В рамках разработанной модели можно ожидать, что схожие иммунные реакции смогут обеспечить защиту детей раннего возраста от размножения вирулентных бактерий, развития симптомов заболевания и распространения коклюшной инфекции.

Совместное содержание детенышей и их матерей, обеспечивающее их тесное общение, приводит к трансмиссии аттенуированных бактерий неиммунизированным матерям. В результате этого формируется иммунная реакция организма матерей, проявляющаяся в выработке специфических антител класса IgG. Сформированный иммунный ответ способен обеспечить защиту обезьян-матерей от экспериментальной инфек-

ции вирулентными бактериями возбудителя коклюша.

Есть основания предполагать, что подобная передача аттенуированных бактерий вакцинного штамма неиммунизированным детям раннего возраста будет иметь место при вакцинации матерей и других членов семьи и обеспечивать пассивную вакцинацию новорожденного с первых дней его жизни. Последующая одно- или двукратная вакцинация младенцев ГамЖВК приведет к формированию устойчивого противобактерийного иммунитета. Разработанный препарат ГамЖВК на основе аттенуированных рекомбинантных бактерий *B. pertussis* является наиболее перспективным для ревакцинации детей и взрослых и формирования коллективного семейного иммунитета против коклюша, так называемого «кокона».

По результатам проведенных доклинических исследований на низших приматах и трех этапов клинических исследований ГамЖВК на взрослых добровольцах получено разрешение Минздрава России на проведение клинических исследований по Протоколу № 04-ГамЖВК-Д1-2023 «Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование безопасности и иммуногенности вакцины «ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» у детей в возрасте 14 и 6 лет.

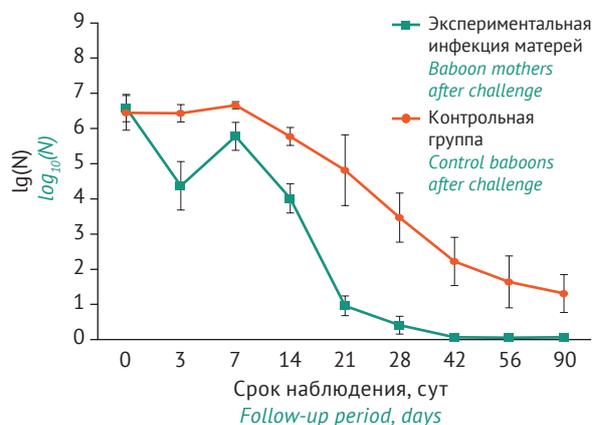


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 6. Динамика размножения (элиминации) вирулентных бактерий *B. pertussis* из носоглотки матерей иммунизированных детенышей. По оси X – сроки наблюдения за матерями от даты экспериментальной инфекции. По оси Y – значения логарифма числа геном-эквивалентов ДНК *B. pertussis* в условном миллилитре раствора.

Fig. 6. Time-course of reproduction (elimination) of virulent *Bordetella pertussis* bacteria in the nasopharynx/oropharynx of baboon mothers of vaccinated infants. The X-axis shows the period of observation, specifying the time since challenge. The Y-axis shows \log_{10} values of the number of genome equivalents of *B. pertussis* DNA in a conventional mL of solution.

ВЫВОДЫ

1. Показана безопасность и хорошая переносимость живой коклюшной вакцины интраназального применения ГамЖВК на экспериментальной модели детенышей обезьян павианов гамадрилов в возрасте 1–1,5 мес.
2. Трансмиссия аттенуированных бактерий *B. pertussis* матерям иммунизированных детенышей не вызвала клинических или лабораторных проявлений коклюша у взрослых особей, контактировавших с иммунизированными детенышами.
3. Экспериментальная инфекция иммунизированных детенышей и матерей вирулентными бактериями возбудителя коклюша не привела к развитию патологического процесса, оцениваемого по состоянию соматического здоровья и лабораторным показателям крови.
4. После первой иммунизации детенышей обезьян павианов гамадрилов аттенуированные бактерии *B. pertussis* регистрируют в носоглотке не менее 60 сут. При повторной иммунизации время выведения бактерий составляет 14–28 сут. Время выведения вирулентных бактерий возбудителя коклюша у иммунизированных детенышей близко ко времени выведения аттенуированных бактерий при повторном введении и составляет 21–28 сут, тогда как время выведения вирулентных бактерий после экспериментального инфицирования неиммунизированных детенышей – более 90 сут.
5. В рамках разработанной модели получены результаты, указывающие на адекватные механизмы формирования противококлюшного иммунитета у детенышей младенческого возраста (1–1,5 мес.) и взрослых животных. Это позволяет ожидать формирования адекватного иммунного ответа у младенцев и детей раннего возраста на интраназальную вакцинацию ГамЖВК, защищающую их от развития симптомов заболевания, размножения вирулентных бактерий и распространения коклюшной инфекции.

Литература/References

1. Macina D, Evans KE. *Bordetella pertussis* in school-age children, adolescents, and adults: a systematic review of epidemiology, burden, and mortality in Africa. *Infect Dis Ther*. 2021;10(3):1097–113. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00442-6>
2. Macina D, Evans KE. *Bordetella pertussis* in school-age children, adolescents and adults: a systematic review of epidemiology and mortality in Europe. *Infect Dis Ther*. 2021;10(4):2071–118. <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00520-9>
3. Басов АА, Высокочанская СО, Цвиркун ОВ, Белова ТР, Адугузелов СЭ, Жернов ЮВ и др. Критерии оценки эпидемиологической ситуации коклюша в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2024;23(1):4–13. Basov AA, Vysochanskaya SO, Tsvirkun OV, Belova TR, Aduguzelov SE, Zhernov YuV, et al. Criteria for assessing the epidemiological situation of pertussis in Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(1):4–13 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-1-4-13>
4. Warfel JM, Zimmerman LI, Merkel TJ. Acellular pertussis vaccines protect against disease but fail to prevent infection and transmission in a nonhuman primate model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(2):787–92. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314688110>
5. Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Медкова АЮ, Каратаев ГИ. Конструирование рекомбинантных аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* генотипа рtxP3. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018;(4):33–41. Semin EG, Sinyashina LN, Medkova AYU, Karataev GI. Construction of recombinant attenuated *Bordetella pertussis* bacteria of ptxP3 genotype. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018;(4):33–41 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-4-33-41>
6. Li R, Lim A, Ow ST, Phoon MC, Loch C, Chow VT, et al. Development of live attenuated *Bordetella pertussis* strains expressing the universal influenza vaccine candidate M2e. *Vaccine*. 2011;29(33):5502–11. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.05.052>
7. Jahnmatz M, Richert L, Al-Tawil N, Storsaeter J, Colin C, Bauduin C, et al. Safety and immunogenicity of the live attenuated intranasal pertussis vaccine BPZE1: a phase 1b, double-blind, randomised, placebo-controlled dose-escalation study. *Lancet Infect Dis*. 2020;20(11):1290–301. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30274-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30274-7)
8. Джидарян АА, Матуа АЗ, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Синяшина ЛН, Дьяков ИН и др. Безопасность и иммуногенность препарата живой коклюшной вакцины ГамЖВК интраназального применения на экспериментальной модели детенышей обезьян вида павиан гамадрил. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2022;99(2):203–14. Djidaryan AA, Matua AZ, Medkova AYU, Semin EG, Sinyashina LN, Dyakov IN, et al. Safety and immunogenicity of live intranasal pertussis vaccine GamLVP in the experimental infant hamadryas baboon model. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2022;99(2):203–14 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-190>
9. Кубрава ДТ, Медкова АЮ, Синяшина ЛН, Шевцова ЗВ, Матуа АЗ, Конджария ИГ и др. Экспериментальный коклюш у обезьян. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013;68(8):28–33. Kubrava DT, Medkova AYU, Sinyashina LN, Shevtsova ZV, Matua AZ, Kondzharia IG, et al. Experimental whooping cough of nonhuman primate. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013;68(8):28–33 (In Russ.). <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i8.720>
10. National Research Council (US), Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the care and use of laboratory animals*. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
11. Медкова АЮ, Синяшина ЛН, Румянцева ЮП, Вороница ОЛ, Кунда МС, Каратаев ГИ. Накопление авирулентных инсерционных Bvg-мутантов *Bordetella pertussis*

- при экспериментальной инфекции лабораторных мышей. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2013;28(4):22–6.
- Medkova AYu, Sinyashina LN, Rummyantseva YuP, Voronina OL, Kunda MS, Karataev GI. Accumulation of avirulent *Bordetella pertussis* Bvg-mutants in the course of experimental whooping cough in mice. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2013;28(4):156–61. EDN: RTWART
12. Нестерова ЮВ, Медкова АЮ, Бабаченко ИВ, Семин ЕГ, Калисникова ЕЛ, Синашнина ЛН, Каратаев ГИ. Клинико-диагностическое значение генетических маркеров *Bordetella pertussis* у контактных лиц в семейных очагах. *Журнал инфектологии*. 2019;11(1):17–24. Nesterova YuV, Medkova AYu, Babachenko IV, Semin EG, Kalisnikova EL, Sinyashina LN, Karataev GI. Clinical-diagnostic value of *Bordetella pertussis* genetic markers in contact persons in familial foci. *Journal Infectology*. 2019;11(1):17–24 (In Russ.). <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-1-17-24>
 13. Медкова АЮ, Синашнина ЛН, Амичба АА, Семин ЕГ, Шевцова ЗВ, Матуа АЗ и др. Доклинические исследования безопасности, иммуногенности и защитной активности аттенуированных бактерий на экспериментальной модели *Macaca mulatta*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(4):312–23. Medkova AYu, Sinyashina LN, Amichba AA, Semin EG, Shevtsova ZV, Matua AZ et al. Preclinical studies of safety, immunogenicity and protective activity of attenuated *Bordetella pertussis* bacteria on the *Macaca mulatta* model. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2020;97(4):312–23 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-4-3>
 14. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Синашнина ЛН, Сюндюкова РА, Дьяков ИН и др. Клинические исследования безопасности и переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики
- коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):114–9.
- Medkova AYu, Lidzhieva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Sioundiukova RA, Dyakov IN, et al. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Drug Development & Registration*, 2021;10(1):114–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119>
15. Каратаев ГИ, Синашнина ЛН, Медкова АЮ, Семин ЕГ, Шевцова ЗВ, Матуа АЗ и др. Инсерционная инактивация оперона вирулентности в популяции персистирующих бактерий *Bordetella pertussis*. *Генетика*. 2016;52(4):422–30. Karataev GI, Sinyashina LN, Medkova AYu, Semin EG, Shevtsova ZV, Matua AZ et al. Insertional inactivation of virulence operon in population of persistent *Bordetella pertussis* bacteria. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(4):370–7. <https://doi.org/10.7868/S0016675816030085>
 16. Медкова АЮ, Лиджиева АА, Семин ЕГ, Синашнина ЛН, Сюндюкова РА, Снегирева НА и др. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):706–20. Medkova AYu, Lidzhiyeva AA, Semin EG, Sinyashina LN, Syundyukova RA, Snegireva NA et al. Immunogenicity of the drug “Live intranasal vaccine for the prevention of pertussis” (GamLPV) with a single use in healthy volunteers. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(6):706–20 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-194>
 17. Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, Schmitt HJ. Pertussis: microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29(3):449–86. <https://doi.org/10.1128/CMR.00083-15>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Д.Т. Кубрава** – проведение эксперимента, введение препарата, сбор биоматериала в динамике, постановка и обработка данных реакции агглютинации, написание текста рукописи; **А.Ю. Медкова** – сбор и анализ литературных данных, планирование экспериментов, статистическая обработка данных, обсуждение результатов исследования, редактирование текста рукописи; **А.З. Матуа** – планирование экспериментов, дизайна работы, постановка и обработка данных ИФА; **И.Г. Конджария** – оформление текста рукописи, обсуждение полученных результатов; **А.А. Амичба** – проведение эксперимента, сбор биоматериала; **Х.З. Трапш** – проведение эксперимента, проведение и обработка данных биохимического анализа крови; **Л.В. Гамгия** – проведение эксперимента, проведение и обработка данных общеклинического исследования крови; **С.В. Куликов** – работа с источниками литературы, проведение эксперимента; **Л.Н. Синашнина** – формирование концепции и дизайна работы, критический анализ результатов исследования; **З.Я. Миквабия** – планирование эксперимента с животными, участие в реализации данного исследования; **Г.И. Каратаев** – формирование концепции, окончательная формулировка выводов, утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **D.T. Kubrava** conducted the experiments, administered the medicinal product, carried out follow-up sampling, set up agglutination assays, processed the assay data, and drafted the manuscript. **A.Yu. Medkova** collected and analysed literature data, planned the experiments, performed the statistical processing of data, discussed the results of the study, and edited the manuscript. **A.Z. Matua** planned the experiments, designed the study, set up the ELISA experiments, and processed the ELISA data. **I.G. Kondzariya** formatted the manuscript and discussed the results of the study. **A.A. Amichba** conducted the experiments and carried out sampling. **Kh.Z. Trapsh** conducted the experiments, carried out blood biochemistry tests and processed the resulting data. **L.V. Gamgiya** conducted the experiments, carried out complete blood counts and processed the resulting data. **S.V. Kulikov** worked with literature and conducted the experiment. **L.N. Sinyashina** conceptualised and designed the study and critically reviewed the results of the study. **Z.Ya. Mikvabiya** planned the experiments with animals and participated in the conduct of this research. **G.I. Karataev** conceptualised the study, formulated the final conclusions, and approved the final version of the manuscript for publication.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено на заседании приматологической комиссии ГНУ «Института экспериментальной патологии и терапии Академии наук Абхазии» от 24.12.2019, утверждено как Тема НИР 1.8. «Оценка безопасности и иммуногенности рекомбинантной живой коклюшной вакцины на экспериментальной модели детенышей павианов гамадрил» Академией наук Абхазии.

Ethics approval. The study was approved at the meeting of the primatology commission of the Institute of Experimental Pathology and Therapy of the Academy of Sciences of Abkhazia on 24.12.2019. The Academy of Sciences of Abkhazia approved the topic of this study as Research Topic 1.8. 'Evaluation of the safety and immunogenicity of an intranasal recombinant live pertussis vaccine in an infant hamadryas baboon model'.

Об авторах / Authors

Кубрава Дженни Тамазовна / Dzhenni T. Kubrava

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9104-4014>

Медкова Алиса Юрьевна, канд. мед. наук / **Alisa Yu. Medkova**, Cand. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>

Матуа Алиса Зауровна, канд. биол. наук, доц. / **Alice Z. Matua**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3275-0941>

Конджария Ирина Георгиевна, канд. биол. наук, доц. / **Irina G. Kondzariya**, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3707-4874>

Амичба Астанда Арнольдовна / Astanda A. Amichba

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4986-1392>

Трапш Хамида Зурабовна / Khamida Z. Trapsh

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0976-0770>

Гамгия Лана Валерьяновна / Lana V. Gamgiya

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8240-8449>

Куликов Сергей Вячеславович / Sergey V. Kulikov

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7478-3624>

Синяшина Людмила Николаевна, д-р мед. наук / **Lyudmila N. Sinyashina**, Dr. Sci. (Med.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>

Миквабия Зураб Ясонович, д-р мед. наук, проф. / **Zurab Ya. Mikvabiya**, Dr. Sci. (Med.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-1436-4824>

Каратаев Геннадий Иванович, д-р биол. наук / **Gennadiy I. Karataev**, Dr. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>

Поступила 04.06.2024

После доработки 09.10.2024

Принята к публикации 06.12.2024

Received 4 June 2024

Revised 9 October 2024

Accepted 6 December 2024