



Комплекс антигенов условно-патогенных бактерий: оценка защитных свойств и токсичности на мышах

А.В. Солдатенкова , Н.Г. Сидоров , С.А. Лазарев , А.П. Жеребцов ,
Н.А. Михайлова 

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Малый Казенный пер., д. 5а, Москва, 105064, Российская Федерация

✉ Солдатенкова Алена Владимировна; sol.alena.v@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Препараты на основе бактериальных антигенов эффективны для профилактики инфекций, вызываемых условно-патогенными бактериями, однако их промышленное использование требует оптимизации состава и технологии получения антигенов. Перспективным подходом является разработка комплекса антигенов *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *Staphylococcus aureus*.

ЦЕЛЬ. Изучение защитных свойств и токсичности антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*, а также комплекса антигенов в эксперименте на мышах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В работе использовали антигены *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177 и суммарный антиген двух штаммов *S. aureus* (1986 и 1991), а также комплекс, состоящий из перечисленных антигенов. Токсичность оценивали на белых мышах линии SHK обоего пола массой 18–20 г. Животным однократно внутрибрюшинно вводили антигены (50, 100 или 200 мкг на мышь) или комплекс антигенов (0,1; 0,2; 0,4; 0,6 мл на мышь). Защитные свойства комплекса антигенов (в дозе 0,1 мл) изучали на самках мышей линии SHK массой 14–16 г. После двукратной иммунизации животных заражали живыми культурами гомологичных штаммов (*K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *S. aureus* 1986) и гетерологичным штаммом *P. aeruginosa* PA103. В течение 7 сут регистрировали выживаемость и рассчитывали значение ЛД₅₀ и индекса эффективности.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Установлено, что антигены *E. coli*, *S. aureus* и *P. vulgaris* (во всех дозах) и антигены *K. pneumoniae* (в дозах 50 и 100 мкг) не вызывали токсические эффекты у мышей. Введение мышам антигена *K. pneumoniae* в дозе 200 мкг приводило к снижению массы тела и гибели животных. Инъекция комплекса антигенов в диапазоне доз 0,1–0,4 мл не вызывала токсических эффектов, а при введении дозы 0,6 мл выявлены признаки токсичности. Двукратная иммунизация комплексом антигенов в дозе 0,1 мл обеспечивала защиту мышей от заражения гомологичными и гетерологичными штаммами. Значения индекса эффективности составили: 7,99 для *K. pneumoniae* 204; 11,56 для *E. coli* F147; 25,90 для *P. vulgaris* 177; 7,45 для *S. aureus* 1986; 4,00 для *P. aeruginosa* PA103 ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ. Исследованные антигены *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*, а также комплекс антигенов обладали приемлемым токсикологическим профилем. Комплекс антигенов продемонстрировал выраженные защитные свойства как против гомологичных штаммов (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*), так и против гетерологичного штамма *P. aeruginosa*. Исследованные антигены и их комплекс могут рассматриваться как основа для создания лекарственного средства для профилактики широкого круга инфекций, вызванных условно-патогенными бактериями.

Ключевые слова: комплекс антигенов; условно-патогенные бактерии; бактериальные антигены; защитные свойства; токсичность; иммунизация; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*

© А.В. Солдатенкова, Н.Г. Сидоров, С.А. Лазарев, А.П. Жеребцов, Н.А. Михайлова, 2025

Для цитирования: Солдатенкова А.В., Сидоров Н.Г., Лазарев С.А., Жеребцов А.П., Михайлова Н.А. Комплекс антигенов условно-патогенных бактерий: оценка защитных свойств и токсичности на мышах. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2025;25(4):438–447. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-438-447>

Финансирование. Работа выполнена в рамках соглашения с Министерством промышленности и торговли Российской Федерации о предоставлении грантов в форме субсидий из федерального бюджета бюджетным учреждениям на реализацию проектов по разработке лекарственных препаратов и медицинских изделий № 020-15-2021-005 от 07.10.2021.

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Antigen complex of opportunistic bacteria: Assessment of protective properties and toxicity in mice

Alena V. Soldatenkova [✉], Nikita G. Sidorov , Sergei A. Lazarev ,
Anton P. Zherebtsov , Natalia A. Mikhailova 

I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, 5A Maly Kazenny Ln., Moscow 105064, Russian Federation

✉ Alena V. Soldatenkova; sol.alena.v@yandex.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Medicinal products based on various bacterial antigens effectively prevent diseases caused by opportunistic bacteria. However, their large-scale use will require improved composition and production process. A promising approach is to develop an antigen complex from *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, and *Staphylococcus aureus*.

AIM. This study aimed to examine protective properties and toxicity of antigens from *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, and the antigen complex in experiments on mice.

MATERIALS AND METHODS. Antigens of *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, the complex of two *S. aureus* antigens (1986 and 1991), and the complex of the above antigens were used in the study. Toxicity was evaluated in white male and female SHK mice weighing 18–20 g. A single dose of antigens (50, 100 or 200 µg per mouse) or antigen complex (0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mL per mouse) was injected intraperitoneally. Protective properties were studied in female SHK mice weighing 14–16 g. Animals were immunised twice and then infected with live homologous strains of *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *S. aureus* 1986, and *P. aeruginosa* PA103 heterologous strain. For seven days, their survival was monitored; LD₅₀ value and efficiency index was determined.

RESULTS. *E. coli*, *S. aureus* and *P. vulgaris* antigens at all tested doses, and *K. pneumoniae* antigens at doses of 50 and 100 µg, did not cause toxic effects in mice. 200 µg of *K. pneumoniae* antigens caused weight loss and animal mortality. Injection of 0.1–0.4 mL of the antigen complex did not cause toxic effects; however, injection of 0.6 mL resulted in manifestations of toxicity. Double immunisation with 0.1 mL antigen complex protected mice against infection with homologous and heterologous strains. Efficiency index was 7.99 for *K. pneumoniae* 204, 11.56 for *E. coli* F147, 25.90 for *P. vulgaris* 177, 7.45 for *S. aureus* 1986, and 4.00 for *P. aeruginosa* PA103 ($p < 0.05$).

CONCLUSIONS. Test antigens of *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, and the antigen complex had an acceptable toxicological profile. The antigen complex has shown significant protective properties both against homologous strains (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, and *S. aureus*) and heterologous strain of *P. aeruginosa*. Thus, the studied antigens and their complex can be used to develop a medicinal product preventing a wide range of opportunistic bacterial infections.

Keywords:

antigen complex; opportunistic infections; bacterial antigens; protective properties; toxicity; immunisation; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris*; *Klebsiella pneumoniae*; *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*

For citation: Soldatenkova A.V., Sidorov N.G., Lazarev S.A., Zherebtsov A.P., Mikhailova N.A. Antigen complex of opportunistic bacteria: Assessment of protective properties and toxicity in mice. *Biological Products. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2025;25(4):438–447. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2025-25-4-438-447>

Funding. This study was carried out within the agreement with the Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation No. 020-15-2021-005 of 10.07.2021 on provision of industrial subsidies from the federal budget to budgetary institutions for implementing development projects of medicinal products and medical devices.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема антибиотикорезистентности обуславливает поиск альтернативных подходов к профилактике и лечению инфекций [1]. Перспективным направлением является использование препаратов на основе бактериальных антигенов, способных стимулировать как врожденный, так и адаптивный иммунитет. Препараты на основе бактериальных антигенов показали эффективность в лечении и профилактике инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной природы, коррекции иммунодефицитных состояний, а также комбинированном лечении неинфекционных заболеваний [2–8]. Однако для промышленного внедрения таких препаратов требуется оптимизация состава и технологии получения, а также всесторонняя оценка их иммунобиологических свойств.

В качестве основы для создания поликомпонентного препарата в ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова) были селекционированы штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *Staphylococcus aureus*, характеризующиеся иммуногенностью и низкой вирулентностью [9]. Нами была оптимизирована технология получения антигенов этих штаммов для промышленного применения, включающая процессы управляемого культивирования на жидких питательных средах и мембранной очистки целевых антигенов. Важнейшим этапом фармацевтической разработки является оценка иммунобиологических и токсических свойств получаемых продуктов.

Цель работы – изучение защитных свойств и токсичности антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*, а также комплекса антигенов в эксперименте на мышах.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

– изучение токсичности антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus* (в дозах 50,

100 и 200 мкг на мышь) и комплекса антигенов (в дозах от 0,1–0,6 мл на мышь);

– изучение защитных свойств комплекса антигенов при заражении мышей штаммами *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Бактериальные штаммы. В работе использовали штаммы *Klebsiella pneumoniae* 204, *Escherichia coli* F147, *Proteus vulgaris* 177, *Staphylococcus aureus* 1986 и *Pseudomonas aeruginosa* PA103 из УНУ «Коллекция микроорганизмов III и IV групп патогенности ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова» (Россия).

Антигены. Антигены штаммов *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *S. aureus* 1986 и *S. aureus* 1991, а также комплекс антигенов получали по технологии, разработанной в лаборатории протективных антигенов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова. Метод включал реакторное культивирование, микро- и ультрафильтрацию [10]. Полученные антигены лиофильно высушивали, смешивали и добавляли лактозу в качестве стабилизатора. Концентрация каждого антигена (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*) в 1 мл препарата составляла 500 мкг.

Экспериментальные животные. Исследование токсичности антигенов и их комплекса проводили на белых мышах линии SHK обоего пола, защитные свойства – на самках мышей линии SHK. В экспериментах использовали 485 животных, полученных из филиала «Андреевка» ФГБНУ «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Россия). Протокол исследований был одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 12 от 05.11.2024). Все манипуляции с животными соответствовали установленным нормам и правилам проведения научных исследований на лабораторных животных¹. Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище.

¹ Рекомендации Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 № 33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований».

Методы

Оценка токсичности. Токсичность антигенов *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, суммарного антигена *S. aureus* штаммов 1991 и 1986 оценивали на мышах SHK обоего пола весом 18–20 г. Для этого формировали группы по 5 животных, которым вводили внутрибрюшинно по 50, 100 или 200 мкг антигенов в 0,5 мл физиологического раствора и наблюдали за их выживаемостью, изменением массы тела и общим состоянием в течение 7 сут. Токсичность комплекса антигенов изучали при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 мл с последующим наблюдением за состоянием животных в течение 7 сут. Контролем служили животные ($n=5$), получавшие физиологический раствор.

Антигены и комплекс антигенов считали нетоксичными при условии обратимого снижения массы тела от исходного значения не более чем на 20%, восстановления массы к 7 сут при отсутствии гибели животных².

Оценка защитных свойств. Защитную активность комплекса антигенов изучали на самках мышей линии SHK массой 14–16 г. Животных иммунизировали двукратно с двухнедельным интервалом внутрибрюшинной инъекцией 0,1 мл комплекса антигенов, разведенного в 0,4 мл физиологического раствора (общий объем введения 0,5 мл). В качестве контроля использовали интактных животных.

Через 2 нед. после последней иммунизации мышей заражали внутрибрюшинно живыми вирулентными культурами одного из следующих штаммов: *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *S. aureus* 1986 или *P. aeruginosa* PA103. Общую концентрацию клеток микроорганизмов определяли в соответствии с ОФС.1.7.2.0008.15³ визуальным методом с использованием стандартного образца мутности (ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России). Штаммы вводили в 5 заражающих дозах (10 животных на дозу). Выживаемость регистрировали в течение 7 сут.

Диапазон заражающих доз для иммунизированных животных в опытной группе составлял: для грамотрицательных микроорганизмов – от 50 до 800 млн микробных клеток (м.к.), для *S. aureus* 1986 – от 250 млн до 4 млрд м.к. на животное. Диапазон заражающих доз для интактных животных (контроль) составлял: для грамотрицательных микроорганизмов – от 6,25

до 100 млн м.к., для *S. aureus* 1986 – от 62,5 млн до 1 млрд.

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office 2016. Статистическую значимость различий между группами оценивали, применяя критерий Манна – Уитни; статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Значение LD_{50} определяли по формуле Кербера (1) в модификации Ашмарина [11]:

$$\lg LD_{50} = \lg A - \lg 2 \times \left(\frac{B_1}{C_1} + \frac{B_2}{C_2} + \frac{B_3}{C_3} + \frac{B_4}{C_4} + \frac{B_5}{C_5} - 0,5 \right), \quad (1)$$

где A – максимальная заражающая доза; B – количество павших животных в группе; C – общее количество животных в группе; цифра в нижнем индексе обозначает номер заражающей дозы (группы).

Доверительный интервал для LD_{50} определяли по формулам (2, 3):

$$\text{Нижняя граница } LD_{50} = 10^{(\lg LD_{50} + \delta \times G_-)}, \quad (2)$$

$$\text{Верхняя граница } LD_{50} = 10^{(\lg LD_{50} - \delta \times G_+)}, \quad (3)$$

где δ – логарифм кратности разведений; G_+ и G_- – табличные коэффициенты [11].

Индекс эффективности (ИЭ) определяли как отношение значения LD_{50} в группе иммунизированных мышей к значению LD_{50} в группе контроля. Вакцинацию считали эффективной при значении ИЭ выше 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование токсичности антигенов

Инъекция антигенов *E. coli* и *P. vulgaris* в дозах 50, 100 и 200 мкг на мышью вызывала обратимое снижение веса в первые дни наблюдения, которое имело дозозависимый характер (табл. 1).

При введении антигена *S. aureus* во всех исследуемых дозах животные на протяжении эксперимента оставались живы. Динамика набора веса у животных не отличалась от контрольной группы, получавшей физиологический раствор, что свидетельствовало об отсутствии токсичности исследуемых доз антигенов. При введении антигена *E. coli* в дозах 200 и 100 мкг восстановление массы тела животных наблюдали на 4 сут, при введении 50 мкг – на 2 сут. Иммунизация

² Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 2. М.: Гриф и К; 2012.

³ ОФС.1.7.2.0008.15 Определение концентрации микробных клеток. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд.; 2018.

Таблица 1. Влияние иммунизации антигенами *E. coli* F147, *K. pneumoniae* 204 и *P. vulgaris* 177 и суммарным антигеном *S. aureus* штаммов 1991 и 1986 на динамику массы тела мышей**Table 1.** Changes in the body weight of mice immunised with antigens of *E. coli* F147, *K. pneumoniae* 204, *P. vulgaris* 177, and a combined antigen of *S. aureus* strains 1991 and 1986

Антиген <i>Antigen</i>	Доза, мкг <i>Dose, µg</i>	Масса тела животных, г Me (Q1; Q3) <i>Animal body weight, g</i> Me (Q1; Q3)								Прирост массы тела на 7 сут, % <i>Body weight</i> <i>gain</i> <i>on Day 7, %</i>
		До введения <i>Before</i> <i>injection</i>	Сутки после введения <i>Days after injection</i>							
			1	2	3	4	5	6	7	
<i>E. coli</i>	200	19,4 (19,0; 19,53)	17,85* (16,78; 18,78)	18,55* (17,3; 19,15)	19,35* (18,27; 21,00)	21,4* (19,78; 22,75)	22,6* (21,4; 23,73)	23,55* (22,2; 24,7)	24,45* (22,93; 25,40)	26,00*
	100	19,95 (18,5; 19,23)	17,6* (16,93; 17,95)	17,3* (16,45; 19,03)	19,5* (18,65; 20,13)	20,6* (19,83; 21,65)	21,85* (21,08; 22,83)	22,85* (21,98; 23,45)	23,45* (22,33; 24,18)	17,50*
	50	19,45 (19,15; 19,85)	18,0* (17,63; 19,45)	19,9* (19,45; 20,93)	21,5* (20,67; 22,45)	22,5* (22,13; 23,73)	23,9* (23,38; 25,10)	24,7 (24,58; 26,23)	25,5 (25,05; 26,30)	31,10*
<i>S. aureus</i>	200	19,53 (18,60; 19,85)	19,89 (19,35; 20,30)	20,80 (20,25; 22,04)	21,90 (21,20; 22,89)	23,50 (22,70; 24,56)	24,10 (23,00; 24,52)	24,80 (22,95; 25,32)	25,70 (23,60; 26,25)	31,59
	100	19,53 (18,20; 19,85)	20,25 (19,30; 21,60)	20,97 (20,30; 23,00)	22,32 (21,30; 23,85)	23,80 (22,50; 25,55)	25,10 (22,74; 26,55)	24,90 (22,93; 25,95)	25,70 (22,90; 26,75)	31,59
	50	18,50 (18,05; 19,52)	19,40 (18,70; 20,02)	20,00 (19,15; 21,18)	21,20 (20,55; 22,48)	23,20 (21,80; 24,10)	22,80 (21,80; 24,54)	23,40 (21,80; 25,01)	24,30 (23,00; 26,06)	31,35
<i>K. pneumoniae</i>	200	19,30 (18,95; 19,65)	14,95* (14,63; 15,50)	15,05* (13,95; 15,45)	17,05* (15,40; 17,43)	18,20* (16,83; 19,20)	19,35* (18,13; 20,40)	20,35* (19,00; 21,25)	20,7* (19,55; 22,25)	7,25*
	100	19,50 (19,30; 19,74)	16,35* (16,15; 16,53)	17,45* (16,68; 18,18)	19,00* (18,33; 19,55)	20,60* (19,58; 21,15)	21,35* (20,55; 22,48)	22,75* (21,68; 23,98)	22,70* (22,20; 24,43)	16,4*
	50	19,70 (19,50; 19,90)	16,75* (16,68; 17,30)	18,05* (17,35; 18,98)	19,50* (18,63; 20,03)	20,65* (20,13; 21,30)	21,80* (19,93; 22,43)	22,90* (21,65; 23,50)	23,30* (21,05; 24,05)	16,24*
<i>P. vulgaris</i>	200	19,6 (19,55; 16,78)	17,5* (17,23; 18,43)	17,9* (17,08; 20,60)	19,75* (18,25; 22,45)	21,35* (19,28; 24,40)	22,75* (19,83; 25,60)	24,1* (20,30; 26,43)	26,5* (22,15; 27,35)	35,2*
	100	19,1 (18,78; 19,38)	17,0* (16,3; 17,38)	18,35* (17,80; 18,70)	19,90* (19,40; 20,15)	21,25* (20,20; 21,48)	21,35* (20,88; 22,10)	22,20* (21,43; 22,60)	22,95* (22,03; 23,73)	20,16*
	50	19,15 (18,88; 19,40)	16,90* (16,30; 17,30)	18,75* (17,78; 19,20)	20,20* (19,05; 21,75)	21,50* (19,75; 22,93)	22,90* (20,78; 24,68)	24,25* (21,60; 26,18)	24,25* (21,90; 26,18)	26,63*
Контроль <i>Control</i>	–	18,90 (18,90; 19,40)	22,00 (19,90; 22,65)	23,01 (20,75; 24,15)	24,40 (21,70; 25,35)	25,60 (22,90; 26,65)	25,60 (23,40; 27,30)	25,9 (23,95; 27,50)	26,30 (23,30; 28,30)	39,38

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. Me (Q1; Q3) – медиана и межквартильный размах; * статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).*Note.* Me (Q1; Q3), median and interquartile range; *, statistically significant difference from the control group, ($p < 0.05$).

антигеном *P. vulgaris* во всех исследуемых дозах вызывала снижение массы тела в течение первых двух суток, после чего значение массы восстанавливалось.

Введение антигена *K. pneumoniae* в дозе в 200 мкг вызывало потерю массы тела в течение первых 5 сут с максимальным снижением (22%) на 2 сут и привело к гибели одного

животного, что указывает на токсичность данной дозы. Иммунизация антигенами *K. pneumoniae* в дозах 50 и 100 мкг вызывала снижение массы тела на протяжении первых 4 сут, после чего масса тела достигала исходных значений и возрастала на протяжении эксперимента (табл. 1).

Внутрибрюшинное введение комплекса антигенов в дозах 0,1, 0,2, 0,4 мл не вызывало гибели животных. Наблюдался незначительное снижение массы тела на 1–3 сут, после чего прирост массы тела возобновлялся (табл. 2). Максимальное снижение массы тела от исходной (14,7%) у животных, получавших дозу 0,1 мл комплекса антигенов, наблюдали на 1 сут; на 2 и 3 сут потеря массы составляла 10,5 и 3,5% соответственно. При введении 0,4 мл комплекса снижение массы на 1, 2 и 3 сут составляло 16,3, 14,5 и 2,3%. Начиная с 4 сут животные прибавляли в массе тела и к 7 сут масса увеличивалась по сравнению с исходной на 23,3–24,3%.

Введение комплекса в дозе 0,6 мл сопровождалось признаками токсичности: снижение двигательной активности и взъерошенность шерсти (на 1–3 сут после введения), гибель одного животного и снижение массы тела ниже исходного уровня у двух мышей к 7 сут. Максимальная потеря массы (21,5%) зарегистрирована на 2 сут,

с положительной динамикой массы тела начиная с 6 сут (табл. 2).

Исследование защитных свойств антигенов

Для оценки защитной активности была выбрана минимальная доза комплекса антигенов (0,1 мл), что снижало риск реактогенности, связанной с двукратным введением липополисахарида грамотрицательных бактерий.

Выявлено, что комплекс антигенов обладал защитными свойствами против заражения штаммами, антигены которых входили в состав комплекса. Значения ИЭ составили: 7,99 при заражении *K. pneumoniae* 204; 11,56 – *E. coli* F147; 25,90 – *P. vulgaris* 177; 7,45 – *S. aureus* 1986 ($p < 0,05$) (табл. 3).

Важным результатом была демонстрация перекрестной защиты против гетерологического штамма *P. aeruginosa* PA103, не входившего в состав комплекса (ИЭ=4,0) (табл. 4).

Таким образом, комплекс антигенов обеспечивал защиту против штаммов патогенов, антигены которых входили в его состав (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*), а также против штамма *P. aeruginosa*, антигены которого отсутствовали в комплексе, что может свидетельствовать о широком спектре защитного действия комплекса.

Таблица 2. Динамика массы тела мышей, иммунизированных комплексом антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus*
 Table 2. Changes in body weight of mice immunised with the antigen complex *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, and *S. aureus*

Препарат <i>Preparation</i>	Доза, мл <i>Dose, mL</i>	Масса тела животных, г Me (Q1; Q3) <i>Animal body weight, g Me (Q1; Q3)</i>								Прирост массы тела на 7 сут, % <i>Body weight gain on Day 7, %</i>
		До введения <i>Before injection</i>	Сутки после введения <i>Days after injection</i>							
			1	2	3	4	5	6	7	
Комплекс антигенов <i>Antigen complex</i>	0,1	19,70 (18,95; 19,70)	16,80* (16,25; 16,95)	17,82* (16,95; 18,25)	19,20* (18,90; 20,15)	21,00* (19,25; 21,90)	22,20* (20,80; 23,45)	23,20* (21,90; 24,80)	23,60* (22,25; 25,35)	23,8*
	0,2	19,15 (19,00; 19,33)	16,20* (15,48; 16,35)	16,70* (16,28; 17,73)	18,85* (18,58; 19,95)	20,45* (19,75; 21,49)	21,85* (20,78; 23,03)	23,15* (22,13; 24,28)	23,80* (22,90; 25,08)	24,3*
	0,4	19,30 (18,70; 19,65)	16,15* (15,98; 17,25)	16,50* (15,78; 17,45)	18,85* (18,05; 20,13)	20,65* (19,55; 21,65)	22,00* (20,73; 22,9)	23,25* (21,75; 24,18)	23,80* (22,30; 25,25)	23,3*
	0,6	19,50 (19,25; 19,73)	17,05* (16,35; 17,53)	15,30* (14,63; 15,83)	16,05* (15,10; 17,73)	16,75* (15,3; 19,26)	18,45* (16,6; 21,00)	20,90* (18,20; 23,15)	21,60* (19,03; 23,93)	10,77*
Контроль <i>Control</i>	–	18,90 (18,90; 19,40)	22,00 (19,90; 22,65)	23,01 (20,75; 24,15)	24,40 (21,70; 25,35)	25,60 (22,90; 26,65)	25,60 (23,40; 27,30)	25,9 (23,95; 27,50)	26,30 (23,30; 28,30)	39,38

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. Me (Q1; Q3) – медиана и межквартильный размах; * статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$).

Note. Me (Q1; Q3), median and interquartile range; *, statistically significant difference from the control group, ($p < 0.05$).

Таблица 3. Защитная активность комплекса антигенов в эксперименте на мышах при заражении штаммами *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *K. pneumoniae* 204 и *S. aureus* 1986Table 3. Protective properties of the antigen complex in mice infected with *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, *K. pneumoniae* 204, and *S. aureus* 1986

Штамм <i>Strain</i>	Группа <i>Group</i>	Заражающая доза, млн м.к. <i>Infecting dose, mln m.c.</i>	Количество мышей пало/всего <i>Number of mice, died/total</i>	ЛД ₅₀ [?] доверительный интервал <i>LD₅₀[?] confidence interval</i>	ИЭ <i>EI</i>
<i>E. coli</i> F147	Контроль (интактные животные) <i>Control (intact animals)</i>	100	9/10	5,0×10 ⁷ , (3,5–7,1)×10 ⁷	-
		50	4/10		
		25	2/10		
		12,5	0/10		
		6,25	0/10		
	Иммунизированные животные <i>Immunised animals</i>	800	6/9	57,8×10 ⁷ , (43,9–93,9)×10 ⁷	11,56
		400	2/10		
		200	1/10		
		100	0/10		
		50	0/10		
<i>P. vulgaris</i> 177	Контроль (интактные животные) <i>Control (intact animals)</i>	100	10/10	2,03×10 ⁷ , (1,44–2,87)×10 ⁷	-
		50	9/10		
		25	7/10		
		12,5	2/10		
		6,25	0/10		
	Иммунизированные животные <i>Immunised animals</i>	800	7/10	52,7×10 ⁷ (40,04–79,88)×10 ⁷	25,9
		400	2/10		
		200	2/10		
		100	0/10		
		50	0/10		
<i>K. pneumoniae</i> 204	Контроль (интактные животные) <i>Control (intact animals)</i>	100	10/10	3,79×10 ⁷ , (2,68–5,35)×10 ⁷	-
		50	7/10		
		25	1/10		
		12,5	1/10		
		6,25	0/10		
	Иммунизированные животные <i>Immunised animals</i>	800	5/9	37,32×10 ⁷ (26,4–52,7)×10 ⁷	9,85
		400	4/9		
		200	4/9		
		100	1/9		
		50	0/9		
<i>S. aureus</i> 1986	Контроль (интактные животные) <i>Control (intact animals)</i>	1000	10/10	3,54×10 ⁸ , (2,50–4,99)×10 ⁸	-
		500	6/10		
		250	3/10		
		125	1/10		
		62,5	0/10		

Продолжение таблицы 3
Table 3 (continued)

Штамм Strain	Группа Group	Заражающая доза, млн м.к. Infecting dose, mln m.c.	Количество мышей пало/всего Number of mice, died/total	ЛД ₅₀ [*] доверительный интервал LD ₅₀ [*] confidence interval	ИЭ EI
<i>S. aureus</i> 1986	Иммунизированные животные Immunised animals	4000	8/10	26,39×10 ⁸ , (20,01–39,94)×10 ⁸	7,45
		2000	3/10		
		1000	0/10		
		500	0/10		
		250	0/10		

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. ЛД₅₀ – доза, вызывающая гибель 50% экспериментальных животных; ИЭ – индекс эффективности; м.к. – микробные клетки; «–» не применимо.

Note. LD₅₀^{*} dose causing the death of 50% of test animals; EI, efficiency index; m.c., microbial cells; –, not applicable.

Таблица 4. Защитная активность комплекса антигенов в эксперименте на мышах при заражении *P. aeruginosa* PA103

Table 4. Protective properties of the antigenic complex in mice infected with *P. aeruginosa* PA103

Штамм Strain	Группа Group of animals	Заражающая доза, млн м.к. Infecting dose, mln m.c.	Количество мышей пало/всего Number of mice, died/total	ЛД ₅₀ [*] доверительный интервал LD ₅₀ [*] confidence interval	ИЭ EI
<i>P. aeruginosa</i> PA103	Контроль (интактные животные) Control (intact animals)	200	10/10	2,14×10 ⁷ , (1,52–3,02)×10 ⁷	–
		100	10/10		
		50	8/10		
		25	8/10		
		12,5	1/10		
		6,25	0/10		
	Иммунизированные животные Immunised animals	800	10/10	8,56×10 ⁷ , (6,1–12,1)×10 ⁷	4,0
		400	10/10		
		200	10/10		
		100	6/10		
		50	1/10		
		25	0/10		

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table was prepared by the authors using their own data

Примечание. ЛД₅₀ – доза, вызывающая гибель 50% экспериментальных животных; ИЭ – индекс эффективности; м.к. – микробные клетки; «–» не применимо.

Note. LD₅₀^{*} dose causing the death of 50% of test animals; EI, efficiency index; m.c., microbial cells; –, not applicable.

Поливалентные препараты на основе бактериальных антигенов (Бронхо-Ваксом®, Исмиген®, Имудон®, Уро-Ваксом® и др.) [12, 13] широко применяются в клинической практике. Их эффективность связана со способностью обеспечивать защиту не только от входящих в их состав условно-патогенных бактерий, но и с активностью в отношении других патогенов, включая неродственные виды бактерий, вирусы и грибы, что подтверждается рядом исследований [14, 15].

В настоящем исследовании выявлена защита против заражения *P. aeruginosa*, которая может быть как следствием активации неспецифического иммунитета в ответ на введение в организм животного чужеродных агентов, так и свидетельствовать о перекрестной активности компонентов комплекса. Для уточнения механизмов защиты и выявления спектра защитного действия комплекса необходимы дальнейшие исследования и оценка его эффективности на других моделях.

ВЫВОДЫ

1. Установлен приемлемый токсикологический профиль исследованных антигенов *K. pneumoniae* 204, *E. coli* F147, *P. vulgaris* 177, суммарного антигена *S. aureus* 1986 и *S. aureus* 1991, а также комплекса антигенов. Комплекс антигенов в диапазоне доз 0,1–0,4 мл вызывал обратимое снижение массы тела мышей, которое не превышало 20%.
2. Продемонстрированы защитные свойства комплекса антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris* и *S. aureus* в отношении живых культур, из которых выделены антигены, а также гетерологического штамма *P. aeruginosa*.
3. Исследованные антигены и их комплекс могут рассматриваться как основа для создания лекарственного средства для профилактики широкого круга инфекций, вызываемых условно-патогенными бактериями.

Литература/References

1. Huemer M, Mairpady Shambat S, Brugger SD, Zinkernagel AS. Antibiotic resistance and persistence – Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Rep.* 2020;21(12):e51034. <https://doi.org/10.15252/embr.202051034>
2. Troiano G, Messina G, Nante N. Bacterial lysates (OM-85 BV): A cost-effective proposal in order to contrast antibiotic resistance. *J Prev Med Hyg.* 2021;62(2):E564–E573. <https://doi.org/10.15167/2421-4248/jpmh2021.62.2.1734>
3. Kostinov M, Chuchalin A, Svitich O, et al. Bacterial lysates in modifying slgA levels in the upper respiratory tract in COVID-19 patients. *Sci Rep.* 2025;15(1):8325. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-92794-z>
4. de Boer GM, Żótkiewicz J, Strzelec KP, et al. Bacterial lysate therapy for the prevention of wheezing episodes and asthma exacerbations: A systematic review and meta-analysis. *Eur Respir Rev.* 2020;29(158):190175. <https://doi.org/10.1183/16000617.0175-2019>
5. Suárez N, Ferrara F, Rial A, et al. Bacterial lysates as immunotherapies for respiratory infections: Methods of preparation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020;8:545. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00545>
6. Rebolledo L, Rodríguez-Vigil C, Carmen L, et al. Bacterial immunotherapy is highly effective in reducing recurrent upper respiratory tract infections in children: A prospective observational study. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2023;280(10):4519–30. <https://doi.org/10.1007/s00405-023-08035-4>
7. Rahman MM, Grice ID, Ulett GC, Wei MQ. Advances in bacterial lysate immunotherapy for infectious diseases and cancer. *J Immunol Res.* 2024;2024:4312908. <https://doi.org/10.1155/2024/4312908>
8. Kaczynska A, Klosinska M, Janeczka K, et al. Promising immunomodulatory effects of bacterial lysates in allergic diseases. *Front Immunol.* 2022;13:907149. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.907149>
9. Егорова НБ, Курбатова ЕА, Ахматова НК, Грубер ИМ. Поликомпонентная вакцина Иммуновак-ВП-4 и иммуно-терапевтическая концепция ее использования для профилактики и лечения заболеваний, вызываемых условно патогенными микроорганизмами. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2019;96(1):43–9. Egorova NB, Kurbatova EA, Akhmatova NK, Gruber IM. Polycapient vaccine Immunovac-VP-4 and immunotherapeutic concept of its use for the prevention and treatment of diseases caused by opportunistic microorganisms. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2019;96(1):43–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-43-49>
10. Михайлова НА, Солдатенкова АВ, Грубер ИМ и др. Способ получения поликомпонентной вакцины на основе антигенов условно-патогенных микроорганизмов. Патент Российской Федерации № 2799527; 2023. Mikhailova NA, Soldatenkova AV, Gruber IM, et al. Method of obtaining a multicomponent vaccine based on antigens of opportunistic microorganisms. Patent of the Russian Federation No. 2799527; 2023 (In Russ.). EDN: [FGORUU](https://doi.org/10.36233/0372-9311-2019-1-43-49)
11. Ашмарин ИП, Воробьев АА. *Статистические методы в микробиологических исследованиях.* Л.: Медгиз; 1962. Ashmarin IP, Vorobyov AA. *Statistical methods in microbiological research.* Leningrad: Medgiz; 1962 (In Russ.).
12. Cazzola M, Anapurapu S, Page CP. Polyvalent mechanical bacterial lysate for the prevention of recurrent respiratory infections: A meta-analysis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2012;25(1):62–8. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2011.11.002>
13. Aziminia N, Hadjipavlou M, Philippou Y, et al. Vaccines for the prevention of recurrent urinary tract infections: A systematic review. *BJU Int.* 2019;123(5):753–68. <https://doi.org/10.1111/bju.14606>
14. Jurkiewicz D, Zielnik-Jurkiewicz B. Bacterial lysates in the prevention of respiratory tract infections. *Otolaryngol Pol.* 2018;72(5):1–8. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.7216>
15. Свистушкин ВМ, Никифорова ГН, Золотова АВ, Степанова ВА. Применение топических бактериальных лизатов в современной клинической практике. *Медицинский совет.* 2021;(6):49–56. Svistushkin VM, Nikiforova GN, Zolotova AV, Stepanova VA. Using of topical bacterial lysates in modern clinical practice. *Medical Council.* 2021;(6):49–56 (In Russ.). <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-6-49-56>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **А.В. Солдатенкова** – разработка дизайна и концепции экспериментального исследования, получение антигенов условно-патогенных бактерий и комплексного антигена, иммунизации животных, сбор и анализ результатов, обобщение данных литературы, применение статистических методов для обработки данных,

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **A.V. Soldatenkova** developed design and concept of the experimental study, obtained antigens of opportunistic bacteria and the complex antigen, immunised the animals, collected and analysed the results, analysed and integrated literature data, applied statistical methods for data analysis, drafted, edited, and formatted the manuscript.

написание, редактирование, оформление текста рукописи; **Н.Г. Сидоров** – получение антигенов условно-патогенных бактерий и комплексного антигена, сбор и анализ результатов, обобщение данных литературы, применение статистических методов для обработки данных, редактирование, оформление текста рукописи; **С.А. Лазарев** – получение антигенов условно-патогенных бактерий и комплексного антигена, анализ данных; **А.П. Жеребцов** – получение антигенов условно-патогенных бактерий и комплексного антигена, иммунизация животных; **Н.А. Михайлова** – разработка дизайна и концепции экспериментального исследования (формулирование идеи, исследовательских целей и задач), критический пересмотр содержания текста рукописи; утверждение окончательной версии статьи для публикации.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования одобрен биоэтической комиссией ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова (протокол № 02 от 02.04.2025).

N.G. Sidorov obtained antigens of opportunistic bacteria and the complex antigen, collected and analysed the results, analysed and integrated literature data, applied statistical methods for data analysis, edited and formatted the manuscript. **S.A. Lazarev** obtained antigens of opportunistic bacteria and the complex antigen and analysed the data; **A.P. Zherebtsov** obtained antigens of opportunistic bacteria and the complex antigen, and immunised the animals. **N.A. Mikhailova** developed the design and concept of the experimental study (idea, research goals, and objectives), revised the manuscript content, and finally approved the article for publication.

Ethics approval. The study was approved by the Bioethics Commission of I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Meeting Minutes No. 02 of 02.04.2025).

Об авторах / Authors

Солдатенкова Алена Владимировна, канд. биол. наук / **Alena V. Soldatenkova**, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5480-1397>

Сидоров Никита Геннадьевич / **Nikita G. Sidorov**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1257-8718>

Лазарев Сергей Александрович / **Sergei A. Lazarev**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3206-6015>

Жеребцов Антон Павлович / **Anton P. Zherebtsov**

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1676-9515>

Михайлова Наталья Александровна, д-р мед. наук, проф. / **Natalia A. Mikhailova**, Dr. Sci. (Med.), Prof.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6652-2093>

Поступила 05.06.2025

После доработки 21.10.2025

Принята к публикации 12.12.2025

Received 5 June 2025

Revised 21 October 2025

Accepted 12 December 2025