ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

Используемые материалы и методы

Критерии включения

- мужчины и женщины в возрасте от 18 до 40 лет с верифицированным диагнозом «здоров»;
- индекс массы тела от 18 до 30 кг/м² (включительно);
- согласие использовать надежные методы контрацепции в течение исследования и 3 мес. после его окончания;
- отсутствие специфических IgM-антител к возбудителю коклюша *B. pertussis*, подтвержденное отрицательным результатом ИФА на определение специфических IgM к антигенам *B. pertussis* (см. ниже);
- уровень специфических IgG-антител к антигенам *B. pertussis* ≤ 45 У/мл, подтвержденный результатом ИФА на определение специфических IgG к антигенам *B. pertussis* (см. ниже);
- отсутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных мазках, подтвержденное методом ПЦР.

Критерии не включения

- наличие коклюша в анамнезе; вакцинация против коклюша в течение последних 10 лет, а также любая вакцинация в течение последнего года;
- заболевания печени или почек;
- любое другое заболевание (в том числе злокачественное новообразование и злокачественные заболевания крови), которое, по мнению исследователя, может повлиять на результаты исследования, или может привести к ухудшению состояния здоровья в ходе исследования;
- зарегистрированные сильные поствакцинальные осложнения в анамнезе;
- результаты лабораторных анализов, выходящие за пределы установленных нормативных показателей исследовательского центра; курсовой прием лекарственных препаратов (включая препараты растительного происхождения и биологически активные добавки) с профилактической или лечебной целью в течение 1 мес. до скрининга;
- наличие антител к ВИЧ и вирусу гепатита С;
- наличие поверхностного антигена вируса гепатита В;
- признаки алкогольной или наркотической зависимости;
- отягощенный аллергологический анамнез (в том числе на лекарственные препараты и пищевые продукты);
- донорство крови/плазмы, хирургическое вмешательство (в условиях стационара) в течение 6 недель до скрининга;
- участие в других клинических исследованиях или прием исследуемых препаратов в течение 3 месяцев до скрининга;
- невозможность понимать или следовать инструкциям протокола;
- острые инфекционные заболевания менее чем за 4 нед. до начала исследования;
- отклонения показателей пикфлоуметрии, указывающие на бронхообструкцию;
- клинически значимые изменения на ЭКГ;
- беременность, лактация (для добровольцев женского пола);
- систолическое артериальное давление < 90 или > 130 мм рт. ст.;
- диастолическое артериальное давление < 60 или > 90 мм рт. ст.;
- частота пульса < 60 или > 90 уд/мин.

Критерии досрочного исключения добровольца из исследования

- Принятие исследователем решения, что добровольца необходимо исключить в интересах самого добровольца.
- Развитие у добровольца серьезного нежелательного явления, ассоциированного с приемом препарата.
- Выявление у добровольца любых других серьезных нежелательных явлений.
- Отказ добровольца сотрудничать или не дисциплинированное его поведение.
- Выявление нарушения правил протокола при включении добровольца.
- Потребность в проведении лечения добровольца в условиях стационара во время проведения исследования.

- Нарушение требований протокола, в том числе поступление добровольца в стационар позже назначенного времени более чем на 1 ч.
- Появление каких-либо патологических изменений состояния здоровья добровольца.
- Получение положительных результатов теста добровольца на содержание алкоголя в выдыхаемом воздухе.
- Получение положительных результатов теста добровольца на злоупотребление лекарственными средствами и прием наркотических средств, таких как кокаин, каннабис, амфетамины, барбитураты и опиоиды.

Материалы и методы, использованные при скрининговом обследовании для подтверждения соответствия добровольцев критериям включения/не включения

Отсутствие специфических антител к возбудителю коклюша определяли с помощью ИФА в соответствии с инструкцией производителя тест-систем RIDASCREEN® Bordetella IgG (Lot: 11037, R-Biopharm, Германия), RIDASCREEN® Bordetella IgM (Lot: 12426, R-biopharm, Германия), RIDASCREEN® Bordetella IgA (Lot: 13316, R-Biopharm, Германия).

Возбудитель в носо-/ротоглотке добровольцев определяли в материале ротоглоточных тампонов с помощью бактериологического метода и ПЦР по разработанной нами методике.

Наличие антител к ВИЧ и вирусу гепатита С, наличие поверхностного антигена вируса гепатита В, и возбудителя сифилиса определяли в клинической лаборатории.

Антитела к ВИЧ и гепатиту С определяли с помощью анализатора «Эволис» (Bio-Rad, США) и соответствующих сертифицированных тест-систем.

Антиген вируса гепатита В определяли на автоматическом хемилюминесцентном анализаторе «ADVISIE-CEUNTAUR» (Siemens, Германия) и соответствующих сертифицированных реактивов.

Наличие возбудителя сифилиса определяли в реакции Вассермана двумя методами: в реакции микропреципитации с кардиолипиновым антигеном (реакция специфическая (ЗАО «ЭКОлаб», Россия) и в реакции пассивной гемагглютинации с антителами к бледной трепонеме (VEDA Lab, Франция).

Признаки алкогольной или наркотической зависимости определяли с помощью физического обследования и анализа на присутствие продуктов метаболизма наркотических веществ в моче с помощью набора полосок «ИммуноХром-5-Мульти-Экспресс» (ООО «МЕД-ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА», Россия) на амфетамин, марихуану, морфин, кокаин и метамфетамин.

Для определения алкоголя в выдыхаемом воздухе использовали алкотестер Koto BAT-004 (Koto, Китай).

Тест на беременность (для добровольцев женского пола) определяли с помощью тест-полоски «FRAUTEST Express» (AXIOM GmbH, Германия).

Функцию внешнего дыхания определяли с помощью пикфлоуметра MicroPeak (CareFusion U.K., Великобритания) на скрининговом визите и через 24 ч после введения препарата.

Электрокардиографическое исследование выполняли на многоканальном (12 каналов) с автоматическим режимом переносном ЭКГ12Т электрокардиографе «Альтон-106 Ц» (ООО «Альтомедика», Россия).

Определение параметров лабораторных исследований крови и мочи добровольцев проводили в лаборатории центра в соответствии с утвержденными инструкциями.

Для исследования общего и биохимического анализов кровь у добровольцев отбирали из локтевой вены, утром, натощак.

Исследования выполняли на анализаторах: общий анализ крови – анализатор гематологический Coulter LH-500 (Beckman Coulter, США), подсчет формулы «глазами» с окраской по Романовскому с использованием микроскопов MEII (Meiji Techno, Япония); биохимический анализ крови – анализатор Beckman Coulter AU480 (Beckman Coulter, США).

Анализ мочи проводили в локальной лаборатории на «Анализаторе мочи многокомпонентном Aution Max AX-4280» (Arkgray, Япония) – метод сухой химии. Белок определяли количественным методом на основе реакции с пирогалловым красным на фотометре биохимическом Микролаб 600 (ООО «Эйлитон», Россия).