



Оригинальная статья / Research article

Разработка способа и схемы применения живой рекомбинантной коклюшной вакцины «ГамЖВК». Безопасность и переносимость двукратной интраназальной вакцинации здоровыми взрослыми добровольцами

Г. И. Каратаев¹✉, А. Ю. Медкова¹, Е. Г. Семин¹, Л. Н. Синяшина¹, Р. А. Сюндюкова¹,
С. В. Куликов¹, Н. А. Снегирёва^{1,3}, И. Н. Чернышова^{1,3}, М. В. Гаврилова^{1,3},
К. К. Бушкова³, А. А. Лиджиева¹✉✉, Л. В. Колобухина¹, И. С. Кружкова¹, Л. Н. Меркулова¹,
М. Г. Русанова², М. В. Базарова³, Н. А. Антипят³, С. В. Сметанина³, Е. А. Смолярчук⁴,
И. Н. Дьяков^{1,3}

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава России), 123098, Россия, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

² ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1 Департамента здравоохранения города Москвы» (ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ»), 125310, Россия, г. Москва, Волоколамское ш., д. 63

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова), 105064, Россия, г. Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а

⁴ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Каратаев Геннадий Иванович. E-mail: karataevgi@rambler.ru

✉✉ Контактное лицо: Лиджиева Алина Анатольевна. E-mail: saadq@yandex.ru

ORCID: Г. И. Каратаев – <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>; А. Ю. Медкова – <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>; Е. Г. Семин – <https://orcid.org/0000-0001-6696-8362>;
Л. Н. Синяшина – <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>; Р. А. Сюндюкова – <https://orcid.org/0000-0001-5600-1967>; С. В. Куликов – <https://orcid.org/0000-0001-7478-3624>;
Н. А. Снегирёва – <https://orcid.org/0000-0002-5399-3224>; И. Н. Чернышова – <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>; М. В. Гаврилова – <https://orcid.org/0000-0002-6936-2486>;
К. К. Бушкова – <https://orcid.org/0000-0002-4757-0751>; А. А. Лиджиева – <https://orcid.org/0000-0002-1537-6444>; Л. В. Колобухина – <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>;
И. С. Кружкова – <https://orcid.org/0000-0002-4327-6985>; Л. Н. Меркулова – <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>; М. Г. Русанова – <https://orcid.org/0000-0001-6818-4107>;
М. В. Базарова – <https://orcid.org/0000-0001-7322-7896>; Н. А. Антипят – <https://orcid.org/0000-0001-8578-2838>; С. В. Сметанина – <https://orcid.org/0000-0003-3763-697X>;
Е. А. Смолярчук – <https://orcid.org/0000-0002-2615-7167>; И. Н. Дьяков – <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>;

Статья поступила: 18.03.2022

Статья принята в печать: 01.07.2022

Статья опубликована: 25.08.2022

Резюме

Введение. Рост заболеваемости коклюшем как детей, так и взрослых разных возрастных групп обосновывает необходимость вакцинации/ревакцинации и разработки новых, приемлемых для этих целей, коклюшных вакцин. Настоящая работа посвящена описанию результатов сравнительного изучения безопасности и переносимости препарата «ГамЖВК» при двукратном интраназальном введении здоровым взрослым добровольцам двумя методами. Обоснован выбор схемы и способа введения препарата. Охарактеризована серологическая структура специфических противокклюшных антител в популяции взрослых людей в возрасте 18–40 лет, проживающих в г. Москве и Московской области.

Цель. Определение безопасности и переносимости препарата «ГамЖВК» при двукратном интраназальном введении вакцины капельным способом и распылением через актуатор.

Материалы и методы. В рандомизированное плацебо-контролируемое исследование было включено 50 здоровых добровольцев мужского и женского пола в возрасте от 18 до 40 лет, удовлетворяющих критериям включения. Добровольцы разделены на 2 группы по 25 человек в каждой: капельный способ введения и распыление через актуатор. В обеих группах препарат «ГамЖВК» вводили двукратно с интервалом 60 дней.

Результаты и обсуждение. Серологический анализ на наличие в популяции здоровых добровольцев специфических противокклюшных антител на этапе предскрининга обосновал включение в исследование добровольцев, содержащих в крови противокклюшные антитела IgG на уровне меньше 40 Ед/мл. Сопоставление результатов доклинических исследований препарата «ГамЖВК» на экспериментальной модели нечеловекообразных обезьян и клинических исследований первой фазы позволило предложить два способа двукратного введения препарата в качестве перспективной схемы вакцинации. В сравнительном рандомизированном исследовании показана безопасность использования предложенной схемы для вакцинации взрослых добровольцев.

Заключение. Обе предложенные схемы двукратного введения могут быть использованы для планирования многоцентрового исследования с целью изучения иммуногенности и защитной активности ГамЖВК.

Ключевые слова: коклюш, клиническое исследование, живая вакцина, безопасность, переносимость, двукратное введение вакцины

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Г. И. Каратаев, А. Ю. Медкова, Л. Н. Синяшина разработали дизайн протокола клинического исследования. А. А. Лиджиева, Л. В. Колобухина, И. С. Кружкова, Л. Н. Меркулова, М. Г. Русанова, М. В. Базарова, Н. А. Антипят, С. В. Сметанина, И. Н. Дьяков, Н. А. Снегирева, И. Н. Чернышова, М. В. Гаврилова, К. К. Бушкова выполняли работы по клиническому исследованию. Г. И. Каратаев, А. Ю. Медкова, Г. Е. Семин, Л. Н. Синяшина, А. А. Лиджиева, Р. А. Сюндюкова, С. В. Куликов, Е. А. Смолярчук проводили обработку и интерпретацию результатов. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов и написании текста статьи.

© Каратаев Г. И., Медкова А. Ю., Семин Е. Г., Синяшина Л. Н., Сюндюкова Р. А., Куликов С. В., Снегирёва Н. А., Чернышова И. Н., Гаврилова М. В., Бушкова К. К., Лиджиева А. А., Колобухина Л. В., Кружкова И. С., Меркулова Л. Н., Русанова М. Г., Базарова М. В., Антипят Н. А., Сметанина С. В., Смолярчук Е. А., Дьяков И. Н., 2022
© Karataev G. I., Medkova A. Yu., Semin E. G., Sinyashina L. N., Sioundiukova R. A., Kulikov S. V., Snegireva N. A., Chernishova I. N., Gavrilova M. V., Bushkova K. K., Lidzhiyeva A. A., Kolobukhina L. V., Kruzhkova I. S., Merkulova L. N., Rusanova M. G., Bazarova M. V., Antipyat N. A., Smetanina S. V., Smolyarchuk E. A., Dyakov I. N., 2022

Для цитирования: Каратаев Г. И., Медкова А. Ю., Семин Е. Г., Синяшина Л. Н., Сюдюкова Р. А., Куликов С. В., Снегирёва Н. А., Чернышова И. Н., Гаврилова М. В., Бушкова К. К., Лиджиева А. А., Колобухина Л. В., Кружкова И. С., Меркулова Л. Н., Русанова М. Г., Базарова М. В., Антипят Н. А., Сметанина С. В., Смолячук Е. А., Дьяков И. Н. Разработка способа и схемы применения живой рекомбинантной коклюшной вакцины «ГамЖВК». Безопасность и переносимость двукратном интраназальном вакцинации здоровыми взрослыми добровольцами. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):202–208. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-202-208>

Development of a Method and a Scheme for the Use of a Live Recombinant Vaccine "GamLPV". Safety and Tolerability of Double Intranasal Vaccination of Healthy Adult Volunteers

Gennadiy I. Karataev¹✉, Alisa Yu. Medkova¹, Evgeniy G. Semin¹, Ludmila N. Sinyashina¹, Rezida A. Sioundiukova¹, Sergey V. Kulikov¹, Nadezhda A. Snegireva^{1,3}, Irina N. Chernishova^{1,3}, Marina V. Gavrilo^{1,3}, Kristina K. Bushkova³, Alevtina A. Lidzhieva¹✉✉, Ludmila V. Kolobukhina¹, Irina S. Kruzhkova¹, Ludmila N. Merkulova¹, Marina G. Rusanova³, Marina V. Bazarova³, Natalia A. Antipyat³, Svetlana V. Smetanina³, Elena A. Smolyarchuk⁴, Ilya N. Dyakov²

¹ N. F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology & Microbiology, 18, Gamalei str., Moscow, 123098, Russia

² Infectious Clinical Hospital No. 1 of the Department of Health of the City of Moscow, 63, Volokolamskoe highway, Moscow, 125310, Russia

³ Federal State Budgetary Scientific Institution "I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera", 5a, Malyy Kazennyy lane, Moscow, 105064, Russia

⁴ I. M. Sechenov First MSU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Gennadiy I. Karataev. **E-mail:** karataevgi@rambler.ru

✉✉ **Corresponding author:** Alevtina A. Lidzhieva. **E-mail:** saadq@yandex.ru

ORCID: Gennadiy I. Karataev – <https://orcid.org/0000-0001-8771-6092>; Alisa Yu. Medkova – <https://orcid.org/0000-0002-1509-0622>; Evgeniy G. Semin – <https://orcid.org/0000-0001-6696-8362>; Ludmila N. Sinyashina – <https://orcid.org/0000-0003-1708-5453>; Rezida A. Sioundiukova – <https://orcid.org/0000-0001-5600-1967>; Sergey V. Kulikov – <https://orcid.org/0000-0001-7478-3624>; Nadezhda A. Snegireva – <https://orcid.org/0000-0002-5399-3224>; Irina N. Chernishova – <https://orcid.org/0000-0001-5053-2433>; Marina V. Gavrilo – <https://orcid.org/0000-0002-6936-2486>; Kristina K. Bushkova – <https://orcid.org/0000-0002-4757-0751>; Alevtina A. Lidzhieva – <https://orcid.org/0000-0002-1537-6444>; Ludmila V. Kolobukhina – <https://orcid.org/0000-0001-5775-3343>; Irina S. Kruzhkova – <https://orcid.org/0000-0002-4327-6985>; Ludmila N. Merkulova – <https://orcid.org/0000-0002-7260-0879>; Marina G. Rusanova – <https://orcid.org/0000-0001-6818-4107>; Marina V. Bazarova – <https://orcid.org/0000-0001-7322-7896>; Natalia A. Antipyat – <https://orcid.org/0000-0001-8578-2838>; Svetlana V. Smetanina – <https://orcid.org/0000-0003-3763-697X>; E. A. Smolyarchuk – <https://orcid.org/0000-0002-2615-7167>; Ilya N. Dyakov – <https://orcid.org/0000-0001-5384-9866>.

Received: 18.03.2022

Revised: 01.07.2022

Published: 25.08.2022

Abstract

Introduction. The increase in the incidence of whooping cough in children and adults of different age groups justifies the need for their revaccination and the development of new, acceptable for these purposes. This work is devoted to substantiating the design of a clinical trial and describing the results of a comparative study of the safety and tolerability of the drug "GamLPV" with two-fold intranasal administration to healthy adult volunteers using two methods. The choice of the scheme and method of administration of the drug is justified. The serological structure of the population of adults aged 18–40 years living in Moscow and the Moscow region is characterized.

Aim. Determination of the safety and tolerability of the drug with a double intranasal administration of the vaccine by drip method and spraying through an actuator.

Materials and methods. A randomized placebo-controlled trial included 50 healthy male and female volunteers aged 18 to 40 years who met the inclusion criteria. The volunteers were divided into 2 groups of 25 people: a drip method of administration and spraying through an "actuator". By both methods, the drug was administered twice with an interval of 60 days.

Results and discussion. Serological analysis of the population of healthy volunteers at the prescreening stage justified the inclusion in the study of volunteers containing anti-pertussis antibodies in the blood (IgG \leq 40 Ed/ml). A comparison of the results of preclinical studies on an experimental model of non-human monkeys and the first phase of a clinical study of GamLPV allowed us to propose two methods of double administration of the drug as a promising vaccination scheme for volunteers. A comparative randomized study shows the safety of using the proposed scheme for vaccination of adult volunteers.

Conclusions. Both proposed methods of double administration can be used to plan a multicenter study to research the immunogenicity and protective activity of GamLPV.

Keywords: pertussis, live vaccine, anti-pertussis vaccine, safety, tolerability, double administration of the vaccine

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Gennadiy I. Karataev, Alisa Yu. Medkova, Ludmila N. Sinyashina developed the design of the clinical trial Protocol. Alevtina A. Lidzhieva, Ludmila V. Kolobukhina, Irina S. Kruzhkova, Ludmila N. Merkulova, Marina G. Rusanova, Marina V. Bazarova, Natalia A. Antipyat, Svetlana V. Smetanina, Ilya N. Dyakov, Nadezhda A. Snegireva, Irina N. Chernishova, Marina V. Gavrilo, Kristina K. Bushkova performed the work for a clinical trial. Gennadiy I. Karataev, Alisa Yu. Medkova, Evgeniy G. Semin, Ludmila N. Sinyashina, Alevtina A. Lidzhieva, Rezida A. Sioundiukova, Sergey V. Kulikov, Elena A. Smolyarchuk participated in data interpretation. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

For citation: Karataev G. I., Medkova A. Yu., Semin E. G., Sinyashina L. N., Sioundiukova R. A., Kulikov S. V., Snegireva N. A., Chernishova I. N., Gavrilo M. V., Bushkova K. K., Lidzhieva A. A., Kolobukhina L. V., Kruzhkova I. S., Merkulova L. N., Rusanova M. G., Bazarova M. V., Antipyat N. A., Smetanina S. V., Smolyarchuk E. A., Dyakov I. N. Development of a method and a scheme for the use of a live recombinant vaccine "GamLPV". Safety and tolerability of double intranasal vaccination of healthy adult volunteers. *Drug development & registration*. 2022;11(3):202–208. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-3-202-208>

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на массовую вакцинацию, коклюш остается важным и опасным заболеванием, уносящим ежегодно сотни тысяч жизней детей, главным образом младенческого возраста [1]. В последние годы отмечается рост числа лабораторно подтвержденных случаев коклюша среди подростков и взрослых [1–3], распространение стертых форм заболевания, а также выявление бессимптомных носителей бактерий *B. pertussis* [2–5]. Рост заболеваемости коклюшем среди детей старшего возраста и взрослых привел к пониманию необходимости введения ревакцинации подростков и взрослых, в том числе беременных и членов их семей для формирования «кокона» [1–6]. Предлагаемая для этих целей бесклеточная коклюшная вакцина оказалась низкоэффективной, поскольку не обеспечивает противобактериальный иммунитет [7–10].

В ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздрава РФ разработан препарат «ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша». Результаты первой фазы клинического исследования показали безопасность и иммуногенность трех исследованных доз препарата «ГамЖВК» при однократном интраназальном капельном введении здоровым добровольцам [11]. Результаты доклинического исследования ГамЖВК на взрослых обезьянах показали выраженную иммуногенность и защитную активность на фоне высокого уровня безопасности и хорошей переносимости 2- и 3-кратного интраназального введения препарата [12]. Исследования показали дозозависимый характер формирования иммунного ответа. Для проведения клинических исследований выбрана доза 5×10^9 КОЕ аттенуированных бактерий *B. pertussis* [11–13]. По данным клинических исследований I фазы, выявлен значительный разброс числа геном эквивалентов ДНК *B. pertussis* (ГЭ) в носоглотке добровольцев, измеренный в одинаковых контрольных точках, что могло быть связано с использованием несовершенного, на первый взгляд, метода капельного введения препарата. Кроме того, в исследовании серологического статуса добровольцев на этапе, предшествующем скринингу, в крови значительного числа обследованных добровольцев обнаружены специфические IgG и IgM к антигенам возбудителя коклюша. Приведенные выше аргументы привели к необходимости пересмотра схемы и способа интраназального введения препарата в сравнении с предыдущим исследованием.

Настоящая работа посвящена обоснованию нового дизайна исследования и описанию результатов сравнительного изучения безопасности и переносимости препарата «ГамЖВК» при двукратном интраназальном введении здоровыми взрослыми добровольцами двумя способами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на основании разрешения Минздрава РФ на проведение клинического исследования № 382 от 02.08.2018 г. Основные критерии

включения: уровень специфических антител IgG к возбудителю коклюша не более 40 МЕ/мл; отсутствием специфических IgM к антигенам *B. pertussis*; отсутствие ДНК *B. pertussis* в назофарингеальных мазках, подтвержденное методом ПЦР. Другие критерии включения/исключения не отличались от критериев I фазы клинического исследования и приведены на сайте ClinicalTrials.govPRS и в наших работах [11, 13]. Соответствие критериям включения подтверждалось в соответствии с ранее описанными методиками [11–13].

Добровольцы были разделены на 2 группы по 25 человек: капельный способ интраназального введения и распыление посредством актуатора. После рандомизации добровольцам обеих групп проводили инокуляцию препарата «ГамЖВК» в дозе 5×10^9 КОЕ по следующей схеме: 25 человек получили препарат интраназально капельно и 25 человек путем распыления с помощью актуатора; в каждой группе 5 участников получили плацебо. Обои способами препарат «ГамЖВК» вводили двукратно с интервалом 60 дней. Присвоенная при рандомизации группа (капельный способ или способ распыления) в течение исследования изменялась.

Контрольные точки для оценки безопасности и параметров иммуногенности проводили до введения препарата «ГамЖВК», сразу после введения и далее на 2-е, 8-е, 15-е, 29-е, 60-е, 61-е, 68-е, 75-е, 89-е и 120-е сутки после каждого введения ГамЖВК. Для ИФА анализа использовали тест-системы RIDASCREEN® Bordetella IgG, IgM (R-Biopharm AG, Германия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью методов описательной статистики [14].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обоснование выбора схемы и способа введения препарата «ГамЖВК» для вакцинации добровольцев. Результаты первой фазы клинических исследований показали безопасность и максимальную иммуногенность однократного интраназального капельного введения 5×10^9 КОЕ аттенуированных бактерий *B. pertussis* [11] и позволили проследить сроки их элиминации из носоглотки добровольцев. Однако значительный разброс значений числа ГЭ (геном эквивалентов) *B. pertussis* в исследуемых назофарингеальных аспиратах привел к заключению о необходимости стандартизации способа введения препарата «ГамЖВК». Было сделано предположение, что использование способа распыления препарата «ГамЖВК» поможет решить поставленную задачу. Для интраназального распыления препарата «ГамЖВК» была использована насадка актуатора надетая взамен иглы на медицинский шприц объемом 2 мл. Актуатор поставляется производителем в виде отдельного стерильного изделия в индивидуальной упаковке. Этот способ технически отличался от использованного в первой фазе клинических исследований, и определен нами как «капельный». При капельном интраназальном введении растворенный препарат

«ГамЖВК» набирали по 0,5 мл с помощью шприца 2 мл с иглой и вводили по 0,25 мл в каждый носовой ход тем же шприцем без иглы. При введении препарата распылением использовали ту же процедуру, но на шприц перед введением надевали актуатор и распыляли суспензию в том же объеме 0,25 мл в каждый носовой ход резким движением поршня. В качестве плацебо применяли стерильный лиофилизат стабилизатора препарата «ГамЖВК», растворенный в 0,9%-м натрия хлорида. Препарат «ГамЖВК» вводили в положении лежа на спине или сидя с запрокинутой головой.

Исследования выживаемости аттенуированных бактерий *B. pertussis* при титровании на среде КУА с кровью не выявили статистически достоверных различий после распыления через актуатор или капельного внесения в пробирку, что подтверждало возможность использования актуатора для интраназальной вакцинации. Ожидалось, что использование актуатора стандартизирует процедуру введения препарата «ГамЖВК» и может привести к некоторому увеличению эффективности выбранной дозы для адгезии в респираторном тракте. Такое допущение требовало не только определения сравнительной эффективности нового способа введения, но и проверки его безопасности в сравнении с капельным.

Как отмечено выше, исходя из данных экспериментов, проведенных на модели нечеловекообразных обезьян, повторная иммунизация препаратом «ГамЖВК» приводила к развитию более выраженно-го иммунного ответа и ускоренному его проявлению. Бустерный ответ, так же как и ускоренная динамика элиминации аттенуированных бактерий *B. pertussis*, был выражен и после экспериментального инфицирования иммунизированных обезьян вирулентными бактериями *B. pertussis* [11].

Анализ представленных данных доклинического исследования позволил обосновать выбор дизайна клинического исследования, предполагающего двукратную иммунизацию добровольцев разными способами интраназального введения препарата «ГамЖВК», имеющих целью оптимизацию процесса вакцинации «ГамЖВК».

Серологический анализ популяции здоровых добровольцев на этапе прескрининговых и скрининговых исследований. Обоснование критерия включения добровольцев, у которых содержание IgG ≤ 40 Ед/мл.

Рядом исследователей показано, что в популяции взрослых и подростков число серопозитивных к возбудителю коклюша увеличивается с возрастом [15, 16]. Это вероятнее всего объясняется циркуляцией бактерий *B. pertussis* и большим числом контактов с инфекцией, обусловленных недиагностированных случаев атипичного течения заболевания, а также бессимптомного бактерионосительства. Авторы показали, что среди обследованных здоровых подростков в возрасте 15–17 лет доля серопозитивных к возбудителю коклюша превышает 80 %. В обширном международном исследовании также показано, что более 80 % взрослого населения в возрасте от 40 до 65 лет

в разных количествах присутствуют антитела к коклюшному токсину [15, 16].

В проведенном нами клиническом исследовании приняли участие здоровые добровольцы в возрасте от 18 до 40 лет. Для оценки серологической структуры выбранной возрастной группы было проведено определение количества специфических IgG и IgM к коклюшному токсину (КТ) и филаментозному гемагглютинину (ФГА) в случайной выборке у добровольцев, проживающих в г. Москве и Московской области. Исследования проводили в мае 2017 г. и июне 2019 г. с привлечением 98 и 127 добровольцев соответственно. Согласно инструкциям к тест-системам RIDASCREEN® Bordetella IgG, IgM, значения и **IgG** < 14 U/ml и **IgM** < 11 U/ml в сыворотке крови характерно для людей с отрицательным диагнозом «коклюш», значения $14 < \text{IgG} < 18$ U/ml и $11 < \text{IgM} < 17$ U/ml не позволяют поставить определенный диагноз. Значения $18 < \text{IgG}$ U/ml и $17 < \text{IgM}$ U/ml трактуется авторами как характерные при коклюше. В рамках настоящей работы приведены результаты анализа суммарной популяции добровольцев, участвующих в обоих исследованиях, выполненных в один эпидемиологический период (поздняя весна-лето) (рисунок 1).

Рисунок 1 иллюстрирует, что при использовании критерия включения: здоровые добровольцы с отрицательным содержанием специфических IgG и IgM, даже с учетом сывороток с пограничным значением (+/-), только немногим больше 40 % добровольцев подходят для исследования. Есть основание полагать, что полученные цифры отражают серологический статус популяции, по крайней мере подмосковной популяции здоровых добровольцев указанного возраста. Так как в настоящее время не установлена корреляция между уровнем специфических антител и их защитной активностью, то с нашей точки зрения нет оснований для исключения более 50 % населения активного возраста из программы вакцинации. Это допущение послужило основанием для расширения критерия включения до значений **IgG** < 40 U/ml при отрицательных результатах для **IgM** < 11 U/ml. Представленные результаты демонстрируют схожие цифры количества серонегативных участников среди обследованных практически здоровых добровольцев разного возраста.

Безопасность и переносимость препарата «ГамЖВК» при двукратном введении добровольцам. Безопасность и переносимость препарата оценивали на основании частоты регистрации нежелательных явления (НЯ), обусловленных наличием субъективных жалоб, изменений жизненно важных показателей, данных ЭКГ, пикфлоуметрии, а также результатов лабораторных исследований мочи и крови, результатов физикального осмотра в период после подписания информированного согласия.

Анализ результатов по безопасности и переносимости препарата «ГамЖВК» проводили с использованием двух подходов. Первый состоял в статистическом анализе отличий каждого из измеренных лабораторных показателей у добровольцев, получивших препарат или плацебо, и сопоставлении их с лабораторными нормами исследовательского центра ГБУЗ «ИКБ

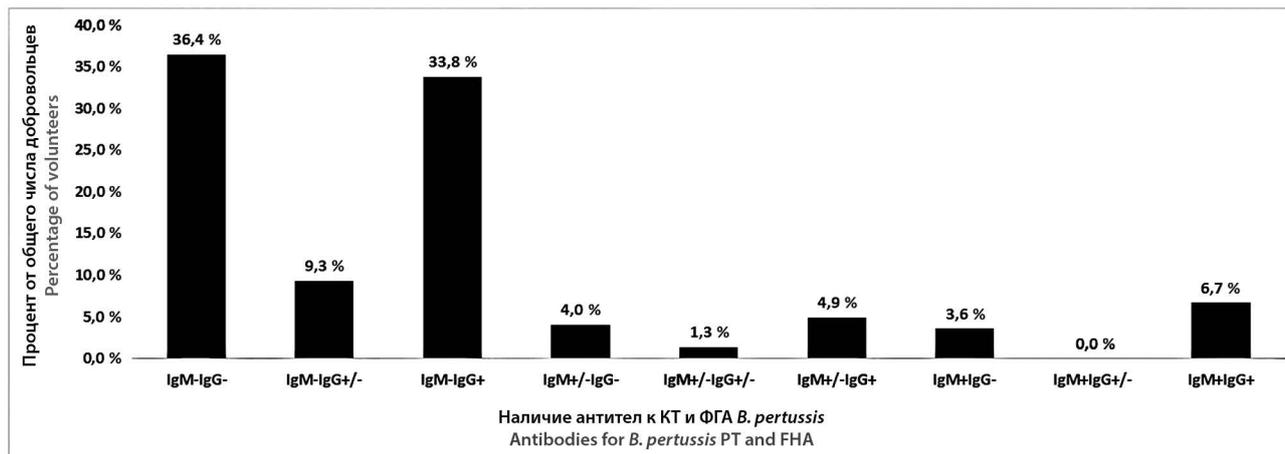


Рисунок 1. Распределение добровольцев в зависимости от наличия IgM- и IgG-антител к *B. pertussis*. IgM-, IgG- – отрицательный результат анализа; IgM+, IgG+ – положительный результат анализа; IgM+/-, IgG+/- – неопределенный результат анализа.

Figure 1. Distribution of volunteers depending on the presence of IgM and IgG antibodies to *B. pertussis*. IgM-, IgG- – negative result of analysis; IgM+, IgG+ – positive result of analysis; IgM+/-, IgG+/- – indefinite result of analysis.

№ 1 ДЗМ». Для оценки достоверности различий между средними значениями показателей у добровольцев, получивших препарат «ГамЖВК» или плацебо, использовали критерий Стьюдента [14]. Число степеней свободы f определяли по формуле:

$$f = (n_1 + n_2) - 2,$$

где $n_1 + n_2$ – число участников в каждой из сравниваемых групп, равное для сравнения капельного введения с плацебо $(20 + 10 - 2) = 28$, для распыления с плацебо $(19 + 10 - 2) = 27$ и объединенной выборки $(39 + 10 - 2) = 47$. Табличные значения t при $p = 0,05$ и $f = 28, 27$ и 47 составили, соответственно, 2,048, 2,052, 2,013. Анализ результатов общего анализа крови (ОАК), биохимического анализов крови (БАК) и анализов мочи (АМ) показал, что абсолютное большинство лабораторных показателей у добровольцев, получивших препарат «ГамЖВК» или плацебо, не имеют значимых различий. Практически все средние значения показателей находятся в пределах допустимой нормы лаборатории ГБУЗ «ИКБ № 1 ДЗМ». Исключение составляет небольшое превышение (до 12%) среднего значения нормы уробилиногена мочи в 5 временных точках, в том числе и в двух случаях группе плацебо; во всех остальных случаях значения находились на верхней границе нормы ИКБ № 1; статистически достоверных различий в исследуемой группе и группе плацебо по уровню уробилиногена в моче не выявлено. Скорее всего, отмеченные отклонения связаны с особенностью определения параметра в ИКБ № 1. Через 7 дней после первой и повторной иммунизации обнаружены минимальные отличия между плацебо и вакцинированными ГамЖВК по сегментоядерным нейтрофилам в крови добровольцев; в обоих случаях значения находились в пределах нормы ИКБ № 1. Спустя 7 дней после первой вакцинации зарегистрировано на минимальном уровне достоверности превышение в содержании моноцитов крови вакцинированных в сравнении с плацебо, при сохранении

их значений в пределах нормы. В последующие сроки значения всех показателей приходили в норму. У добровольцев, рандомизированных для введения препарата «ГамЖВК» путем распыления, до введения было отмечено на минимальном уровне достоверности более низкое содержание альбумина в крови (на 8%). Так же как и в других случаях средние значения показателей находились в пределах лабораторных норм ИКБ № 1 и не регистрировались на следующих визитах. Представленные результаты указывали на отсутствие статистически достоверных различий измеренных лабораторных показателей между группами добровольцев, получивших плацебо и препарат «ГамЖВК».

Незначительные отличия лабораторных показателей в анализах крови и мочи, выявленные у некоторых добровольцев в разные сроки после первого и второго введения препарата «ГамЖВК», не имели регулярного характера; в большинстве случаев регистрировались на фоне аналогичных изменений в анализах добровольцев в ряде случаев у получивших плацебо, и по мнению врачей-исследователей не имели клинического значения и связи с интраназальным введением препарата «ГамЖВК».

Следует отметить повышение артериального давления у трех добровольцев с максимумом систолического и диастолического до 147 и 91 мм рт.ст. соответственно, и быстрой нормализацией в день первого введения препарата/плацебо, что вероятнее всего связано с эмоциональным фактором. По данным ЭКГ отмечена незначительная брадикардия с максимумом снижения до 50 уд. в минуту, что может являться вариантом нормы у здоровых лиц молодого возраста и быть связанным с физиологической кардиотренированностью. Патологических клинически значимых изменений на электрокардиограммах за все время исследования выявлено не было.

У одного добровольца было зафиксировано нежелательное явление (НЯ) – острая респираторная

вирусная инфекция, протекавшее в легкой форме, при этом клинически диагноз «коклюш» не подтвердился. По данным пикфлоуметрии патологических изменений не выявлено. Каких-либо местных и общих реакций организма добровольцев после первого и второго введения ГамЖВК не зафиксировано. Все зарегистрированные НЯ за все время проведения исследования не имели четкой связи с применением препарата «ГамЖВК» или плацебо.

В исследование было рандомизировано 50 здоровых добровольцев, однако завершили участие только 48. Два добровольца отказались от участия в исследовании после рандомизации: один – до первой вакцинации, второй – перед второй вакцинацией; и это не было связано с нежелательными явлениями или вопросами безопасности, но обусловлено желанием участника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполненное исследование позволило предложить применение двух способов интраназального введения живой рекомбинантной коклюшной вакцины «ГамЖВК» – капельного и распыление с помощью актуатора. Показано, что оба способа интраназального введения препарата «ГамЖВК» здоровым добровольцам безопасны и хорошо переносятся на протяжении всего времени наблюдения. Повторное введение препарата «ГамЖВК» не ухудшает его безопасность и переносимость не независимо от способа введения. Оба способа введения и схема, предполагающая двукратное интраназальное введение препарата «ГамЖВК» с интервалом в 60 дней, могут быть предложены для вакцинации взрослых здоровых добровольцев.

Показана серологическая гетерогенность к возбудителю коклюша в популяции здоровых добровольцев в возрасте 18–40 лет, проживающих в г. Москве и Московской области.

На основании представленных данных подготовлен Протокол следующего этапа клинического исследования перспективной вакцины, а также получено разрешение Минздрава РФ на проведение клинических исследований по протоколу «Рандомизированное слепое плацебо-контролируемое, многоцентровое исследование иммуногенности и безопасности препарата «ГамЖВК, живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» у здоровых добровольцев» № 332 от 01.07 2021».

ЛИТЕРАТУРА

1. Kilgore P. E., Salim A. M., Zervos M. J., Schmitt H.-J. Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016;29(3):449–486. DOI: 10.1128/CMR.00083-15.
2. Wiley K. E., Zuo Y., Macartney K. K., McIntyre P. B. Sources of pertussis infection in young infants: a review of key evidence informing targeting of the cocoon strategy. *Vaccine*. 2013;31(4):618–625. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.052.
3. Wendelboe A. M., Njamkepo E., Bourillon A., Floret D. D., Gaudeilus J., Gerber M., Grimprel E., Greenberg D., Halperin S., Liese J., Muñoz-Rivas F., Teyssou R., Guiso N., Van Rie A. Transmission of *Bordetella pertussis* to young infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(4):293–299. DOI: 10.1009/01.inf.0000258699.64164.6d.

4. Медкова А. Ю., Аляпкина Ю. С., Сняшина Л. Н., Амелина И. П., Алексеев Я. И., Каратаев Г. И., Боковой А. Г. Распространенность стертых форм коклюша и анализ фазовых состояний бактерий *Bordetella pertussis*. *Детские инфекции*. 2010;4:19–22.
5. Salim A. M., Liang Y., Kilgore P. E., Protecting Newborns Against Pertussis: Treatment and Prevention Strategies. *Pediatr Drugs*. 2015;17:425–441. DOI: 10.1007/s40272-015-0149-x.
6. Kandeil W., Van den Ende C., Bunge E. M., Jenkins V. A., Ceregido M. A., Guignard A. Guignard. A systematic review of the burden of pertussis disease in infants and the effectiveness of maternal immunization against pertussis. *Expert Review of Vaccines*. 2020;19(7):621–638. DOI: 10.1080/14760584.2020.1791092.
7. Warfel J. M., Zimmerman L. I., Merkel T. J. Acellular Pertussis Vaccines Protect Against Disease But Fail to Prevent Infection and Transmission in a Nonhuman Primate Model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:787–792. DOI: 10.1073/pnas.1314688110.
8. Wilk M. M., Borkner L., Misiak A., Curham L., Allen A. C., Mills K. H. G. Immunization With Whole Cell But Not Acellular Pertussis Vaccines Primes CD4 TRM Cells That Sustain Protective Immunity Against Nasal Colonization With *Bordetella pertussis*. *Emerg Microbes Infect*. 2019;8:169–85. DOI: 10.1080/22221751.2018.1564630.
9. Holubová J., Stanek O., Brazdilova L., Masin J., Bumba L., Gorringer A. R., Alexander F., Sebo P. Acellular Pertussis Vaccine Inhibits *Bordetella pertussis* Clearance From the Nasal Mucosa of Mice. *Vaccines*. 2020;8(4):695. DOI: 10.3390/vaccines8040695.
10. Dubois V., Chatagnon J., Thiriard A., Bauderlique-Le Roy H., Debie A.-S., Coutte L., Loch C. Suppression of Mucosal Th17 Memory Responses by Acellular Pertussis Vaccines Enhances Nasal *Bordetella pertussis* Carriage. *NPJ Vaccines*. 2021;6(1). DOI: 10.1038/s41541-020-00270-8.
11. Медкова А. Ю., Сняшина Л. Н., Амичба А. А., Семин Е. Г., Шевцова З. В., Матуа А. З., Джидарян А. А., Кубрава Д. Т., Конджария И. Г., Баркая В. С., Миквабия З. Я., Каратаев Г. И. Доклинические исследования безопасности, иммуногенности и защитной активности аттенуированных бактерий *Bordetella pertussis* на экспериментальной модели *Mascaca mulatta*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020;97(4):312–323. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-4-3.
12. Медкова А. С., Лиджиева А. А., Семин Е. Г., Сняшина Л. Н., Сюндюкова Р. А., Дьяков И. Н., Колобухина Л. В., Кружкова И. С., Меркулова Л. Н., Русанова М. Г., Антипий Н. А., Сметанина С. В., Каратаев Г. И. Клиническая исследования безопасности и переносимости живой вакцины интраназального применения для профилактики коклюша. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(1):114–119. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119.
13. Медкова А. Ю., Лиджиева А. А., Семин Е. Г., Сняшина Л. Н., Сюндюкова Р. А., Снегирёва Н. А., Чернышова И. Н., Гаврилова М. В., Бушкова К. К., Колобухина Л. В., Кружкова И. С., Меркулова Л. Н., Русанова М. Г., Дьяков И. Н., Каратаев Г. И. Иммуногенность препарата «Живая вакцина интраназального применения для профилактики коклюша» (ГамЖВК) при однократном применении у здоровых добровольцев. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(6):706–720. DOI: 10.36233/0372-9311-194.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1998. 459 с.
15. Басов А. А., Цвиркун О. В., Герасимова А. Г., Россюшанская Н. В., Бабенко В. Н. Состояние специфического иммунитета к коклюшу в разных возрастных группах детей. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2015;14(3):84–88. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-3-84-88.
16. Berbers G., van Gageldonk P., van de Kasstelee J., Wiedermann U., Desombere I., Dalby T., Toubiana J., Tsioufas S., Ferencz I. P., Muller K., Griskevicius A., Kolupajeva T., Vestreim D. F., Palminha P., Popovici O., Wehlin L., Kastarin T., Madarova L., Campbell H., Ködmön C., Bacci S., Barkoff A.-M., He Q. Circulation of pertussis and poor protection against diphtheria among middle-aged adults in 18 European countries. *Nature Communications*. 2021;12(1):2871. DOI: 10.1038/s41467-021-23114-y.

REFERENCES

1. Kilgore P. E., Salim A. M., Zervos M. J., Schmitt H.-J. Pertussis: Microbiology, Disease, Treatment, and Prevention. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016;29(3):449–486. DOI: 10.1128/CMR.00083-15.

- Wiley K. E., Zuo Y., Macartney K. K., McIntyre P. B. Sources of pertussis infection in young infants: a review of key evidence informing targeting of the cocoon strategy. *Vaccine*. 2013;31(4):618–625. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.052.
- Wendelboe A. M., Njamkepo E., Bourillon A., Floret D. D., Gaudeilus J., Gerber M., Grimprel E., Greenberg D., Halperin S., Liese J., Muñoz-Rivas F., Teyssou R., Guiso N., Van Rie A. Transmission of Bordetella pertussis to young infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2007;26(4):293–299. DOI: 10.10097/01.inf.0000258699.64164.6d.
- Medkova A. Yu., Alyapkina Yu. S., Sinyashina L. N., Amelina I. P., Alekseev Ya. I., Karataev G. I., Bokovoy A. G. The prevalence of subclinical forms of pertussis and analysis of phase states of bacteria *Bordetella pertussis*. *Children infections*. 2010;4:19–22. (In Russ.)
- Salim A. M., Liang Y., Kilgore P. E., Protecting Newborns Against Pertussis: Treatment and Prevention Strategies. *Pediatr Drugs*. 2015;17:425–441. DOI: 10.1007/s40272-015-0149-x.
- Kandeil W., Van den Ende C., Bunge E. M., Jenkins V. A., Cereghido M. A., Guignard A. Guignard. A systematic review of the burden of pertussis disease in infants and the effectiveness of maternal immunization against pertussis. *Expert Review of Vaccines*. 2020;19(7):621–638. DOI: 10.1080/14760584.2020.1791092.
- Warfel J. M., Zimmerman L. I., Merkel T. J. Acellular Pertussis Vaccines Protect Against Disease But Fail to Prevent Infection and Transmission in a Nonhuman Primate Model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111:787–792. DOI: 10.1073/pnas.1314688110.
- Wilk M. M., Borkner L., Misiak A., Curham L., Allen A. C., Mills K. H. G. Immunization With Whole Cell But Not Acellular Pertussis Vaccines Primes CD4 TRM Cells That Sustain Protective Immunity Against Nasal Colonization With Bordetella Pertussis. *Emerg Microbes Infect*. 2019;8:169–85. DOI: 10.1080/22221751.2018.1564630.
- Holubová J., Stanek O., Brazdilova L., Masin J., Bumba L., Gorringer A. R., Alexander F., Sebo P. Acellular Pertussis Vaccine Inhibits Bordetella Pertussis Clearance From the Nasal Mucosa of Mice. *Vaccines*. 2020;8(4):695. DOI: 10.3390/vaccines8040695.
- Dubois V., Chatagnon J., Thiriard A., Bauderlique-Le Roy H., Debrie A.-S., Coutte L, Loch C. Suppression of Mucosal Th17 Memory Responses by Acellular Pertussis Vaccines Enhances Nasal Bordetella Pertussis Carriage. *NPJ Vaccines*. 2021;6(1). DOI: 10.1038/s41541-020-00270-8.
- Medkova A. Yu., Sinyashina L. N., Amichba A. A., Semin E. G., Shevtsova Z. V., Matua A. Z., Djidaryan A. A., Kubrava D. T., Kondzhariya I. G., Barkaya V. S., Mikvabiya Z. Ya., Karataev G. I. 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):312–323. (In Russ.) DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-4-3.
- Medkova A. Yu., Lidzhieva A. A., Semin E. G., Sinyashina L. N., Sioundiukova R. A., Dyakov I. N., Kolobukhina L. V., Kruzhkova I. S., Merkulova L. N., Rusanova M. G., Antipyat N. A., Smetanina S. V., Karataev G. I. A clinical study of the safety and tolerability of live nasal vaccines for the prevention of pertussis. *Drug development & registration*. 2021;10(1):114–119. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-114-119
- Medkova A. Yu., Lidzhiyeva A. A., Semin E. G., Sinyashina L. N., Syundyukova R. A., Snegireva N. A., Chernyshova I. N., Gavrilova M. V., Bushkova K. K., Kolobukhina L. V., Kruzhkova I. S., Merkulova L. N., Rusanova M. G., Dyakov I. N., Karatayev G. I. 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):706–720. (In Russ.) DOI: 10.36233/0372-9311-194.
- Glanc S. Primer of biostatistics. Moscow: Praktika; 1998. 459 p. (In Russ.)
- Basov A. A., Tsvirkun O. V., Gerasimova A. G., Rossoshanskaya N. V., Babenko V. N. Condition of Specific Immunity to Pertussis in Different Age Groups of Children. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2015;14(3):84–88. (In Russ.) DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-3-84-88.
- Berbers G., van Gageldonk P, van de Kassteele J., Wiedermann U., Desombere I., Dalby T., Toubiana J., Tsiodras S., Ferencz I. P., Mullan K., Griskevicius A., Kolupajeva T., Vestrheim D. F., Palminha P., Popovici O., Wehlin L., Kastrin T., Mađarová L., Campbell H., Ködmön C., Bacci S., Barkoff A.-M., He Q. Circulation of pertussis and poor protection against diphtheria among middle-aged adults in 18 European countries. *Nature Communications*. 2021;12(1):2871. DOI: 10.1038/s41467-021-23114-y.