

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-6-5-11>

Иммунобиологические свойства антигенных препаратов *Streptococcus pneumoniae* и их смесей

М. М. Токарская*¹, Е. А. Наянова^{1,2}, О. В. Нечаева^{1,2}, С. А. Барановская¹,
О. М. Афанасьева¹, Д. С. Воробьев^{1,2}, И. М. Грубер¹, Е. А. Асташкина¹, Н. Н. Овечко¹,
И. Б. Семенова¹, Н. Е. Ястребова¹

¹ФГБНУ «НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова», Москва

²ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» МЗ РФ (Сеченовский Университет), Москва

Резюме

Актуальность. Типоспецифический иммунитет не защищает от инфицирования другими серотипами пневмококков. Известен феномен смены серотипов, доминирующих в популяции *Streptococcus pneumoniae*, отчасти обусловленный интенсивным рекомбинационным процессом и явлением «переключения капсулы». Поэтому разработка серотипнезависимой пневмококковой вакцины является важнейшим направлением в профилактике пневмококковой инфекции. **Цель.** Исследование иммунобиологических свойств кандидатных компонентов будущей вакцины с серотипнезависимой активностью. **Материалы и методы.** Для иммунизации мышей использовали препараты капсульного полисахарида пневмококка серотипа 3 (КПС); белоксодержащую фракцию (БСФ), полученную из водного экстракта клеток *S. pneumoniae* 6B; рекомбинантный пневмолизин (Ply); смеси препаратов (КПС + Ply; КПС + БСФ; БСФ + Ply); конъюгированную вакцину «Превенар-13» (производство Pfizer Inc. США). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно, 2-кратно с интервалом 14 дней. В качестве контрольной группы использовали интактных мышей. Для оценки гуморального иммунного IgG ответа использовали метод твердофазного ИФА. Фагоцитарную активность изучали на 7, 14, 21 и 28-й день после второй иммунизации. Уровень цитокинов определяли в сыворотках крови мышей после второй иммунизации через 2, 4, 8 и 24 часа. **Результаты.** Иммунизация мышей Ply, а также его смесями с КПС и с БСФ вызывала достоверно значимое повышение уровня антител к Ply. Установлено, что не было очевидного уменьшения уровня антиген-специфических антител, когда антигены вводили в комбинации с другими. Пневмолизин, применяемый отдельно или в комбинации с БСФ и КПС, вызывает выработку противовоспалительных цитокинов IL-4, IL-10, а также IL-5, выявляемого на протяжении всего исследования. Это подтверждается при исследовании опсоно-фагоцитарной активности нейтрофилов мышей, иммунизированных КПС + Ply, Ply + БСФ и Ply, в их крови наблюдается значительное повышение числа эозинофилов за счет стимуляции их выработки IL-5. **Выводы.** В результате проведенных исследований показано, что Ply, применяемый отдельно или в комбинации с КПС и с БСФ, обладает наибольшей иммуногенностью: стимулирует значимое повышение уровня специфических антител, стимулирует выработку иммунорегуляторных цитокинов, влияющих на дифференцировку Th-1 и Th-2.

Ключевые слова: *Streptococcus pneumoniae*, иммунобиологическая активность, компоненты вакцины
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Токарская М. М., Наянова Е. А., Нечаева О. В. и др. Иммунобиологические свойства антигенных препаратов *Streptococcus pneumoniae* и их смесей. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2021;20(6): 5–11. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-6-5-11>.

Immunobiological Properties of Antigenic Preparations *Streptococcus pneumoniae* and their Mixtures

MM Tokarskaya**¹, EA Nayanova^{1,2}, OV Nechaeva^{1,2}, SA Baranovskaya¹, OM Afanasyeva¹, DS Vorobyev^{1,2}, IM Gruber¹, EA Astashkina¹,
NN Ovechko¹, IB Semenova¹, NE Yastrebova¹

¹ Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

² Sechenov University, Moscow, Russia

Abstract

Relevance. Type-specific immunity does not protect against infection with other pneumococcal serotypes. The phenomenon of the change of serotypes dominating the population of *Streptococcus pneumoniae* is known, in part due to the intensive recombination process and the phenomenon of «capsule switching». Therefore, the development of a serotype-independent

*Для переписки: Токарская Марина Михайловна, н. с. лаборатории иммунохимической диагностики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова», 142455, Моск. обл., Г.О. Богородский, г. Электроугли, ул. Школьная, д. 51-А, кв. 32. +7 (915) 064-98-81, marina.tokarskaja@yandex.ru.

©Токарская М. М. и др.

** For correspondence: Marina M. Tokarskaya, researcher of the Laboratory of immunochemical diagnostics Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera; appart. 32, 51-A, st. Shkolnaya, Elektrougli, 142455, Moscow Region. +7 (915) 064-98-81, marina.tokarskaja@yandex.ru.
©Tokarskaya MM et al.

pneumococcal vaccine is an important global public health priority. **Aims.** Investigation of immunobiological properties of candidate components of a future vaccine with serotype-independent activity. **Materials and methods.** For immunization of mice, preparations of the capsular polysaccharide of pneumococcus serotype 3 (CPS) were used; protein-containing fraction (PCF) obtained from an aqueous extract of *S. pneumoniae* 6B cells; recombinant pneumolysin (Ply); mixtures of drugs (CPS + Ply; CPS + PCF; PCF + Ply); conjugate vaccine Prevnar 13 (manufactured by PFIZER Inc. USA). Mice were immunized intraperitoneally, 2 times with an interval of 14 days. Intact mice were used as a control group. To assess the humoral immune IgG response, the method of solid-phase ELISA was used. Phagocytic activity was studied at 7, 14, 21 and 28 days after the second immunization. The cytokine level was determined in the blood sera of mice after the second immunization 2, 4, 8, and 24 hours later on a NovoCyte flow cytometer (ACEA Biosciences, USA) using the MACSPlex CytoKine 10 Kit mouse (Miltenyi Biotec Inc., USA) according to the manufacturer's instructions. **Results.** Immunization of mice with Ply as well as mixtures with CPS and PCF caused a significant increase in the level of antibodies to Ply. It was found that there was no apparent decrease in the level of antigen-specific antibodies when antigens were administered in combination with others. Pneumolysin, used alone or in combination with PCF and CPS, induces the production of anti-inflammatory cytokines IL-4, IL-10, and IL-5 detected throughout the study. This is confirmed by a study of the opsonophagocytic activity of neutrophils from immunized CPS + Ply, Ply + PCF and Ply mice; a significant increase in the number of eosinophils is observed in their blood due to the stimulation of their production of IL-5. **Conclusions.** As a result of the studies, it was shown that Ply, used alone or in combination with CPS and PCF, has the highest immunogenicity: it stimulates a significant increase in the level of specific antibodies, stimulates Th-2, and induces the production of anti-inflammatory cytokines.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, immunobiological activity, vaccine components
No conflict of interest to declare.

For citation: Tokarskaya MM, Nayanova EA, Nechaeva OV, et al. Immunobiological properties of antigenic preparations *Streptococcus pneumoniae* and their mixtures. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021;20(6): 5–11 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-6-5-11>.

Введение

Не одно десятилетие пневмококк остается наиболее распространенным возбудителем бактериальных инфекций. Из-за значительного серотипового разнообразия пневмококковые инфекции развиваются в любом возрасте. Несмотря на имеющиеся в арсенале для борьбы с пневмококковой инфекцией эффективные антибактериальные препараты, согласно позиции ВОЗ «...вакцинация – единственный способ существенно повлиять на заболеваемость пневмококковой инфекцией» [1]. Однако, несмотря на замечательные успехи пневмококковых вакцин, отмечаются некоторые ограничения. Во-первых, клиническую эффективность вакцин в предотвращении наиболее распространенных проявлений пневмококковой инфекции, а именно среднего отита и пневмонии, труднее установить напрямую из-за трудностей с установлением точного диагноза. Во-вторых, постлицензионные эпиднадзорные исследования носительства и изолятов пневмококка после внедрения конъюгированных вакцин продемонстрировали рост показателей носительства и впоследствии пневмококковых инфекций, связанных с невакцинными серотипами [2]. Типоспецифический иммунитет не защищает от инфицирования другими серотипами пневмококков. Известен феномен смены серотипов, доминирующих в популяции *S. pneumoniae*, отчасти обусловленный интенсивным рекомбинационным процессом и явлением «переключения капсулы» [3–5]. Если серотипы могут вытеснять друг друга в ходе естественной конкуренции и эволюции, то специфическая вакцинация провоцирует частичную замену

«вакцинных» серотипов на «невакцинные» еще более эффективно. По всем этим причинам разработка серотипнезависимой пневмококковой вакцины является важным направлением в профилактике пневмококковой инфекции [6]. Одним из наиболее практичных способов достижения этого является иммунизация некапсулярными пневмококковыми антигенами, которые обладают высокой иммуногенностью и консервативны для всех серотипов. Анализируя данные литературы, можно заключить, что основными типами инновационных вакцин, способных охватывать большинство пневмококковых штаммов, являются разрабатываемые на основе протективных белковых антигенов, в том числе в комплексе с капсульными полисахаридами, с использованием адъювантов или систем доставки антигена, а также инактивированные цельноклеточные препараты и живые аттенуированные вакцины [7–9]. Вероятно, использование антигенов пневмококка различного происхождения и поиск их оптимальной комбинации для иммунизации является перспективным направлением в создании серотипнезависимой вакцины против пневмококковой инфекции.

Цель работы – исследование иммунобиологических свойств кандидатных компонентов будущей вакцины с серотипнезависимой активностью.

Материалы и методы

Мыши линии Balb/c, самцы, массой 14–16 г были получены из питомника ГУ НЦ Биомедицинских технологий. Мыши содержались в условиях вивария. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственным

стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33216-2014).

Для иммунизации мышей использовали капсульный полисахарид (КПС), пневмолизин (Ply), белоксодержащую фракцию (БСФ), смеси КПС + Ply, КПС + БСФ, Ply + БСФ, Превенар® 13 (производство Pfizer Inc. США). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно, 2-кратно с интервалом 14 дней. Разовую иммунизирующую дозу вводили в физиологическом растворе объеме 0,5 мл. В качестве контрольной группы использовали интактных мышей.

Контрольной группе вводили физиологический раствор. Капсульный полисахарид получали из культуры свежeweделенного штамма *S. pneumoniae* сер. 3, выращенного на полусинтетической питательной среде (штамм депонирован в коллекции ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, свидетельство № 316). Этапы выделения включали ультрафильтрацию и концентрирование, обработку ферментами, фенольную депротеинизацию и диализ. Белковую фракцию 30–100 kDa получали при помощи фильтров Amicon Ultra из водного экстракта инактивированных ацетоном клеток *S. pneumoniae* 6B № 296 [10]. Рекомбинантный пневмолизин был предоставлен сотрудниками НИИВС им. И.И. Мечникова.

Для оценки гуморального иммунного IgG ответа использовали метод твердофазного ИФА.

С целью получения иммуносорбентов лунки отдельных полистирольных пластин («Greiner», Германия) сорбировали каждым из препаратов: КПС, БСФ и Ply. Препараты растворяли в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ) с pH – 7,2–7,4 до концентрации 2 мкг/мл. Используя полученные иммуносорбенты, сыворотки анализировали согласно описанной методике [11]. Результаты выражали в условных единицах (J), рассчитанных по формуле: $J = [OP_{анал.} / (OP_{к.} + 0,25)] \times 100$, где $OP_{анал.}$ – оптическая плотность в лунке с анализируемой сывороткой; $OP_{к.}$ – оптическая плотность в лунке с отрицательной контрольной сывороткой. В качестве отрицательного контроля (К-) использовали сыворотки неиммунизированных мышей. Уровень аутоиммунных антител определяли согласно описанной методике [12]. Фагоцитарную активность изучали на 7, 14, 21 и 28-й день после второй иммунизации. У всех мышей брали кровь из ретроорбитального синуса. В приготовленных и окрашенных по Май-Грюнвальду мазках определяли количество фагоцитированных бактерий [13].

Уровень цитокинов определяли в сыворотках крови мышей после второй иммунизации через 2, 4, 8 и 24 часа на проточном цитометре NovoCyte (ACEA Biosciences, USA), с использованием набора MACSPlex CytoKine 10 Kit mouse (Miltenyi Biotec Inc., USA) согласно инструкции производителя.

Таблица 1. Препараты и их смеси, использованные для иммунизации
Table 1. Preparations and mixtures used for immunization

Препарат, использованный для иммунизации The preparation used for immunization	Первая иммунизация First immunization		Вторая иммунизация Second immunization	
	доза мкг/мышь dose mkg/mice	кол-во мышей number of mice	доза мкг/мышь dose mkg/mice	кол-во мышей number of mice
КПС CPS	5	40	5	40
КПС+ БСФ CPS + PCF	5 + 50	40	5 + 50	40
КПС + Ply CPS + Ply	5 + 25	40	5 + 50	40
Ply + БСФ Ply + PCF	25 + 50	40	25 + 50	40
Ply Ply	25	40	25	40
БСФ PCF	50	40	50	40
Превенар® 13* Prevnar 13™*	1/5 ч.д.	40	–	–
Контроль Control	–	40	–	40

Примечание: *препаратом Превенар® 13 проведена однократная иммунизация 1/5 человеческой дозы
Note: * single immunization of 1/5 of the human dose was carried out with Prevna 13™

Статистическую обработку полученных данных проводили, используя компьютерные программы Microsoft Excel и Biostat. В качестве порога достоверности отличий было определено значение вероятности $p < 0,05$ [14].

Результаты и обсуждение

Исследование уровня специфических антител показало, что введение мышам монопрепаратов КПС и БСФ, а также их смеси давало незначительное увеличение показателей уровня антител (табл. 2), в отличие от иммунизации мышей препаратом Ply. Уровень антител к пневмолизину после иммунизации был в 12,9 раза выше, чем у интактных животных. Иммунизация смесью Ply с КПС также вызывала достоверно значимое повышение уровня антител к Ply (в 11,6 раза). Иммунизация мышей смесью препаратов Ply с БСФ давала повышение уровня антител к Ply в 9 раз, а к БСФ – в 7 раз, чем у интактных животных. Вероятно, в этом случае прослеживается кумулятивный эффект стимуляции гуморального иммунного ответа, так как иммунизация монопрепаратом БСФ не давала достоверно значимого повышения уровня антител ни к одному из использованных в ИФА антигенов. Кроме того, не было очевидного уменьшения уровня антиген-специфических антител, когда антигены вводили в комбинации с другими, что указывает на отсутствие детектируемого антагонистического эффекта объединения антигенов.

При изучении влияния иммунизации препаратами *S. pneumoniae* на образование аутоантител не было выявлено значимого повышения уровня антител к нативной (н-ДНК) и денатурированной (д-ДНК) дезоксирибонуклеиновой кислоте (табл. 3). Использование смеси препаратов не выявило способности препаратов усиливать реактогенность друг друга.

Уровни цитокинов в сыворотке крови мышей определяли в опытах *in vivo* через 2, 4, 8 и 24 часа после двукратной иммунизации препаратами *S. pneumoniae*. Динамика продукции цитокинов представлена в таблице 4. Из таблицы видно, что иммунизация мышей препаратом КПС приводила к незначительному повышению продукции IFN- γ в сравнении с контрольной группой. Иммунизация препаратом БСФ через 8 часов вызывала однократную выработку высоких концентраций провоспалительных цитокинов IL-12p70, IL-23 и IFN- γ , индуцирующих клеточный иммунный ответ. При совместном введении этих препаратов (КПС + БСФ) выработка цитокинов практически не изменялась, что может свидетельствовать о том, что КПС не усиливал влияние БСФ на продукцию цитокинов. Через 2 часа после иммунизации смесью КПС + Ply наблюдали синтез иммунорегуляторных цитокинов IL-2, IL-4, которые участвуют в организации лимфоидного ответа и активации противовоспалительного цитокина IL-10, что может

Таблица 2. Уровень антител (АТ) к отдельным антигенам в сыворотках мышей, двукратно иммунизированных моно- и бивалентными препаратами

Table 2. The level of antibodies (AB) to individual antigens in the sera of mice immunized twice with mono- and bivalent preparations

Препараты для иммунизации The preparations used for immunization	Уровень АТ (J) к: AB (J) level to:		
	КПС Pn 3 CPS Pn3	Ply Ply	БСФ PCF
КПС CPS	46,2 ± 21,0	25,1 ± 3,7	42,6 ± 3,7
КПС + БСФ CPS + PCF	55,0 ± 26,2	32,9 ± 6,9	61,7 ± 4,4
КПС + Ply CPS + Ply	55,0 ± 21,2	323,9 ± 19,1**	80,9 ± 33,7
Ply + БСФ Ply + PCF	43,3 ± 17,9	245,1 ± 19,6**	327,7 ± 5,2**
Ply Ply	38,1 ± 17,3	357,5 ± 13,3**	57,4 ± 21,1
БСФ PCF	50,4 ± 17,7	37,6 ± 7,9	53,2 ± 8,2
Превенар® 13* Prevnam 13™	51,3 ± 14,1	34,1 ± 6,4	–
Контроль Control	38,9 ± 17,8	27,7 ± 9,2	46,8 ± 11,4

Примечание: * препаратом Превенар® 13 проведена однократная иммунизация; **различия достоверны ($p < 0,05$) по сравнению с контролем
Note: * single immunization was carried out with Prevnam 13™; **differences are significant ($p < 0.05$) compared to control

Таблица 3. Уровень аутоантител к органонеспецифическим антигенам в сыворотках мышей, иммунизированных моно препаратами и их смесями

Table 3. The level of autoantibodies to organ-nospecific in the sera of mice immunized with mono drugs and their mixtures

Препараты для иммунизации The preparations used for immunization	Уровень АТ (J) к: AB (J) level to:	
	н-ДНК* n-DNA	д-ДНК** d-DNA
КПС CPS	51,9 ± 6,5	73,7 ± 8,3
КПС + БСФ CPS + PCF	58,3 ± 10,9	78,6 ± 6,0
КПС + Ply CPS + Ply	51,9 ± 2,7	76,9 ± 11,9
Ply + БСФ Ply + PCF	54,5 ± 10,8	72,5 ± 8,5
Ply Ply	57,6 ± 8,2	72,2 ± 17,6
БСФ PCF	56,9 ± 9,3	71,6 ± 12,2
Превенар® 13 Prevnar 13™	50,9 ± 10,8	68,4 ± 4,5
Контроль Control	54,5 ± 8,9	74,2 ± 9,5

Примечание: *н-ДНК – нативная дезоксирибонуклеиновая кислота; **д-ДНК – денатурированная дезоксирибонуклеиновая кислота
Note: *n-DNA – native deoxyribonucleic acid; **d-DNA – denatured deoxyribonucleic acid

свидетельствовать об активации как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. Через 4 часа выявляли IL-2, стимулирующий дифференцировку и пролиферацию Т-клеток и выработку IFN-γ; IL-23, участвующий в созревании Т-клеток памяти, а также высокие значения IFN-γ. Далее через 8 часов концентрация IFN-γ падала, и через 24 часа цитокины не выявляли. После иммунизации мышей смесью Ply + БСФ через 2 часа выявляли высокие концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, антагонистическое действие которых приводило к выявлению на 4 часа только незначительных концентраций IFN-γ, который сохранялся через 8 часов и исчезал через 24 часа. При иммунизации препаратом Ply наблюдали активную выработку иммунорегуляторных цитокинов, таких как IL-2, IL-4 и IL-5, на протяжении всего опыта и однократное повышение противовоспалительного цитокина IL-10 через 2 часа. Определение в сыворотке крови мышей IL-2 и IL-4 в первые 4 часа может свидетельствовать о формировании сначала клеточного иммунного ответа, а обнаружение IL-5 на протяжении всего эксперимента при отсутствии других цитокинов в сыворотке крови животных подтверждает последующую активацию гуморального иммунного ответа. У мышей, иммунизированных препаратами КПС + Ply и Ply + БСФ, секреция цитокинов IL-2 и IL-12p70 быстро подавлялась, а продукция IL-23 и IFN-γ, вероятно, была обусловлена действием КПС и БСФ на Th-1, что подтверждают результаты иммунизации этими компонентами

по отдельности. Стоит отметить, что при исследовании влияния иммунизации препаратами КПС + Ply, Ply + БСФ и Ply на динамику продукции цитокинов на протяжении всего времени выявляли IL-5, который относится к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов и отвечает за дифференцировку В-лимфоцитов и развитие аллергического воспаления. Результаты, полученные при исследовании опсоно-фагоцитарной активности нейтрофилов иммунизированных мышей, подтверждают данные, приведенные в таблице 4: в крови мышей, иммунизированных КПС + Ply, Ply + БСФ и Ply наблюдали значительное повышение числа эозинофилов, вероятно, на фоне повышенной секреции IL-5. Лимфоцитоз, наблюдаемый в мазках, можно объяснить активной стимуляцией пролиферации В-лимфоцитов противовоспалительными цитокинами.

Выводы

1. Пневмолизин, применяемый отдельно или в комбинации с КПС и с БСФ, обладал наибольшей иммуногенностью: стимулировал значимое повышение уровня специфических антител, вызывал индукцию Th-1 и Th-2 лимфоцитов посредством выработки иммунорегуляторных и противовоспалительных цитокинов.
2. В крови мышей, иммунизированных КПС + Ply, Ply + БСФ и Ply, наблюдали значительное повышение числа эозинофилов, вероятно, на фоне увеличения секреции IL-5.

Таблица 4. Динамика продукции цитокинов при введении препаратов *S. pneumoniae*
Table 4. Dynamics of cytokine production upon administration of *S. pneumoniae* preparations

Препарат Preparation	Уровень цитокинов в сыворотке крови мышей, пкг/мл через: The level of cytokines in the blood serum of mice, pkg/ml after:			
	2 часа 2 hours	4 часа 4 hours	8 часов 8 hours	24 часа 24 hours
КПС CPS	–	IFN-γ 39,75 ± 8,1	IFN-γ 50,85 ± 13,29	–
КПС + БСФ CPS + PCF	IL-23 1,74 ± 0,14 IFN-γ 136,4 ± 16,77	–	IFN-γ 50,26 ± 17,9	–
КПС + Ply CPS + Ply	IL-4 13,84 ± 1,21 IL-2 4,17 ± 0,27 IL-5 2,64 ± 0,07 IL-10 7,97 ± 0,21	IL-2 4,45 ± 1,22 IL-5 4,58 ± 0,43 IL-23 1,58 ± 0,73 IFN-γ 166,3 ± 21,68	IL-5 4,07 ± 0,16 IFN-γ 43,17 ± 1,78	–
Ply+ БСФ Ply + PCF	IL-4 12,26 ± 0,78 IL-2 9 ± 0,83 IL-10 20,54 ± 0,47 IL-12 (p70) 0,28 ± 0,14 IL-23 1,86 ± 0,73 IFN-γ 167,87 ± 18,39	IL-5 3,14 ± 0,05 IFN-γ 41,88 ± 2,85	IL-5 3,27 ± 0,06 IFN-γ 58,33 ± 7,71	–
Ply Ply	IL-4 15,36 ± 0,21 IL-2 25,08 ± 0,89 IL-10 22,22 ± 1,53 IL-12 (p70) 0,45 ± 0,22	IL-4 1,67±0,07 IL-2 17,56±2,91 IL-5 5,62±0,16	IL-5 6,61 ± 0,63	IL-5 2,66±0,04
БСФ PCF	–	–	IL-12 (p70) 0,62 ± 0,11 IL-23 3,89 ± 0,37 IFN-γ 160,34 ± 24,89	–
Контроль Control	–	IFN-γ 36,74 ± 10,96	–	IFN-γ 23,17 ± 5,04

- При введении КПС, КПС + БСФ и БСФ не было очевидного уменьшения уровня антиген-специфических антител, что указывает на отсутствие детектируемого антагонистического эффекта объединения антигенов.
- У мышей, иммунизированных препаратами КПС + Ply и Ply + БСФ, продукция цитокинов

- IL-23 и IFN-γ была обусловлена действием КПС и БСФ на Th-1, что подтверждают результаты иммунизации этими компонентами по отдельности.
- Полученные результаты позволяют продолжить исследование оптимального состава смеси антигенов пневмококка, обладающей свойствами серотипнезависимой вакцины.

Литература

- Izu A, Solomon F, Nzenze SA, et al. Pneumococcal conjugate vaccines and hospitalization of children for pneumonia: a time-series analysis, South Africa, 2006–2014. *Bulletin of the World Health Organisation*. 2017. Vol. 95, N9. P. 618–628.
- Feldman C, Anderson R. Recent advances in the epidemiology and prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections [version 1; peer review: 2 approved] // *F1000Research*. 2020. Vol. 9 (F1000 Faculty Rev), N338. P. 1–10.
- Костюкова Н. Н., Бехало В. А. Факторы патогенности пневмококка и их протективные свойства. *Журнал микробиологии и эпидемиологии*. 2014. №3. С. 67–77.
- Löchen A, Croucher NJ, Anderson RM. Divergent serotype replacement trends and increasing diversity in pneumococcal disease in high income settings reduce the benefit of expanding vaccine valency. *Scientific Reports*. 2020. Vol.10, N1. 18977.

5. Lewnard JA, Hanage WP. Making sense of differences in pneumococcal serotype replacement. *The Lancet Infectious Diseases*. 2019. Vol. 19, N6. P. e213–e220.
6. Converso TR, Assoni L, André GO, et al. The long search for a serotype independent pneumococcal vaccine. *Expert Review of Vaccines*. 2020. Vol. 19, N1. P. 57–70.
7. Chan WY, Entwistle C, Ercoli G, et al. A novel, multiple-antigen pneumococcal vaccine protects against lethal *Streptococcus pneumoniae* challenge // *Infection and Immunity*. 2019. Vol. 87, N3. P. e00846–18.
8. Colijn C, Corander J, Croucher NJ. Designing ecologically optimized pneumococcal vaccines using population genomics. *Nature Microbiology*. 2020. Vol. 5, N3. P. 473–485.
9. Jang AY, Ahn KB, Zhi Y, et al. Serotype-independent protection against invasive pneumococcal infections conferred by live vaccine with *lgt* deletion // *Frontiers in Immunology*. 2019. Vol. 10, N1212. P. 1–14.
10. Кукина О.М., Грубер И.М., Ахматова Н.К. и др. Исследование иммунобиологических свойств поверхностных белоксодержащих антигенов *Streptococcus pneumoniae* серотипа 6В // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020. Т. 19, №3. С. 21–27.
11. Ванеева Н.П., Ястребова Н.Е. Специфический иммунный ответ к отдельным капсульным полисахаридам *S. pneumoniae* у здоровых доноров крови и лиц, иммунизированных пневмококковыми вакцинами // *Журн. Микробиол.* 2015. №5. С. 20–26.
12. Ястребова Н.Е., Ванеева Н.П., Демин А.А. и др. Иммуноферментный анализ антител к нативной и денатурированной ДНК // *Иммунология*. 1987. №5. С. 73–75.
13. Березина Ю. А., Домский И.А., Бельтюкова З.Н. и др. Сравнительный анализ иммунного ответа у лисиц, иммунизированных разными вакцинами препаратами. *Вестник КрасГАУ*. 2019. №3. С. 97–102.
14. Гланц С.А. Медико-биологическая статистика. М.: Издательство «Практика»; 1999.

References

1. Izu A, Solomon F, Nzenze SA, et al. Pneumococcal conjugate vaccines and hospitalization of children for pneumonia: a time-series analysis, South Africa, 2006–2014. *Bulletin of the World Health Organisation*. 2017;95(9):618–28. doi: 10.2471/BLT.16.187849
2. Feldman C, Anderson R. Recent advances in the epidemiology and prevention of *Streptococcus pneumoniae* infections [version 1; peer review: 2 approved], *F1000Research*. 2020; 9: F1000 Faculty Rev-338. doi: 10.12688/f1000research.22341.1
3. Kostyukova NN, Bekhalo VA. Pathogenicity factors of pneumococcus and their protective properties. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2014;(3):67–77 (In Russ).
4. Løchen A, Croucher NJ, Anderson RM. Divergent serotype replacement trends and increasing diversity in pneumococcal disease in high income settings reduce the benefit of expanding vaccine valency. *Scientific Reports*. 2020;10(1):18977. doi: 10.1038/s41598-020-75691-5
5. Lewnard JA, Hanage WP. Making sense of differences in pneumococcal serotype replacement. *The Lancet Infectious Diseases*. 2019;19(6):e213–e220. doi: 10.1016/S1473-3099(18)30660-1
6. Converso TR, Assoni L, André GO, et al. The long search for a serotype independent pneumococcal vaccine. *Expert Review of Vaccines*. 2020;19(1):57–70. doi: 10.1080/14760584.2020.1711055
7. Chan WY, Entwistle C, Ercoli G, et al. A novel, multiple-antigen pneumococcal vaccine protects against lethal *Streptococcus pneumoniae* challenge. *Infection and Immunity*. 2019;87(3):e00846–18. doi: 10.1128/IAI.00846-18.
8. Colijn C, Corander J, Croucher NJ. Designing ecologically optimized pneumococcal vaccines using population genomics. *Nature Microbiology*. 2020;5(3):473–85. doi: 10.1038/s41564-019-0651-y.
9. Jang AY, Ahn KB, Zhi Y, et al. Serotype-independent protection against invasive pneumococcal infections conferred by live vaccine with *lgt* deletion. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:1212. doi: 10.3389/fimmu.2019.01212.
10. Kukina OM, Gruber IM, Akhmatova NK, et al. Study of the immunobiological properties of surface protein-containing antigens of *Streptococcus pneumoniae* serotype 6B. *Epidemiologiia i vakcinooprofilaktika*. 2020;19(3):21–7. (In Russ). doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-21-27
11. Vaneeva NP, Yastrebova NE. Specific immune response to individual *S. pneumoniae* capsular polysaccharides in healthy blood donors and persons immunized with pneumococcal vaccines. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2015;(5):20–6. (In Russ).
12. Yastrebova NE, Vaneeva NP, Demin AA, et al. Immunoassay of antibodies to native and denatured DNA. *Immunologia*. 1987;(5):73–5. (In Russ).
13. Berezina YA, Domskey IA, Belyukova ZN, et al. Comparative analysis of the immune response in foxes immunized with different vaccine preparations. *Bulletin of KrasGAU*, 2019;(3):97–102 (In Russ).
14. Glantz SA. *Primer of biostatistics*. 4th ed. Moscow: Praktika; 1999 (In Russ).

Об авторах

- **Марина Михайловна Токарская** – научный сотрудник лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, marina.tokarskaja@yandex.ru. ORCID 0000-0002-5175-5433.
- **Елена Андреевна Наянова** – лаборант-исследователь лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва; студентка ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет); +7 (495) 916-22-63, alena.nayanova@mail.ru.
- **Ольга Валерьевна Нечаева** – лаборант-исследователь лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва; студентка ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет); +7 (495) 916-22-63, ne4aewalyolia@yandex.ru.
- **Софья Александровна Барановская** – младший научный сотрудник лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-22-63, sofya-baranovskaya@gmail.com.
- **Ольга Максимовна Афанасьева** – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-20-47, kukina1994@mail.ru.
- **Денис Сергеевич Воробьев** – к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории терапевтических вакцин ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва; старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченовский университет). +7 (495) 917-57-74, vorobievdenis@yandex.ru.
- **Ирина Мироновна Грубер** – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-20-47, igruber_instmech@mail.ru.
- **Елена Андреевна Асташкина** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной микробиологии ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 916-20-47, selena7-87@rambler.ru.
- **Николай Николаевич Овечко** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 917-07-41, med-complex@yandex.ru.
- **Ирина Борисовна Семенова** – к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории терапевтических вакцин ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 917-57-74, ibsemenova@yandex.ru.
- **Наталья Евгеньевна Ястребова** – д. м. н., профессор, заведующая лабораторией иммунохимической диагностики ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Москва. +7 (495) 917-07-41, yastreb03@rambler.ru.

Поступила: 04.06.2021. Принята к печати: 20.10.2021.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Marina M. Tokarskaya** – researcher of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, marina.tokarskaja@yandex.ru. ORCID 0000-0002-5175-5433.
- **Elena A. Nayanova** – research assistant of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; student of the Sechenov University. +7 (495) 916-22-63, alena.nayanova@mail.ru.
- **Olga V. Nechaeva** – research assistant of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; student of the Sechenov University. +7 (495) 916-22-63, ne4aewalyolia@yandex.ru.
- **Sofya A. Baranovskaya** – junior researcher of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 916-22-63, sofya-baranovskaya@gmail.com.
- **Olga M. Afanaseva** – junior researcher of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 916-20-47, kukina1994@mail.ru.
- **Denis S. Vorobyov** – Cand. Sci. (Med.), leading researcher of the Laboratory of therapeutic vaccines, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia; senior lecturer, department of Microbiology, Virology and Immunology of the Sechenov University. +7 (495) 917-57-74, vorobievdenis@yandex.ru.
- **Irina M. Gruber** – Dr. Sci (Med), professor, Head of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 916-20-47, igruber_instmech@mail.ru.
- **Elena A. Astashkina** – Cand. Sci. (Bio.), senior researcher of the Laboratory of experimental microbiology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 916-20-47, selena7-87@rambler.ru.
- **Nikolay N. Ovechko** – Cand. Sci. (Bio.), senior researcher of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 917-07-41, med-complex@yandex.ru.
- **Irina B. Semenova** – Cand. Sci. (Bio.), leading researcher of the Laboratory of therapeutic vaccines, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 917-57-74, ibsemenova@yandex.ru.
- **Natalia E. Yastrebova** – Dr. Sci (Med), professor, Head of the Laboratory of immunochemical diagnostics, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. +7 (495) 917-07-41, yastreb03@rambler.ru.

Received: 04.06.2021. Accepted: 20.10.2021.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.