

Достижения в вакцинологии по созданию средств специфической профилактики опасных инфекций

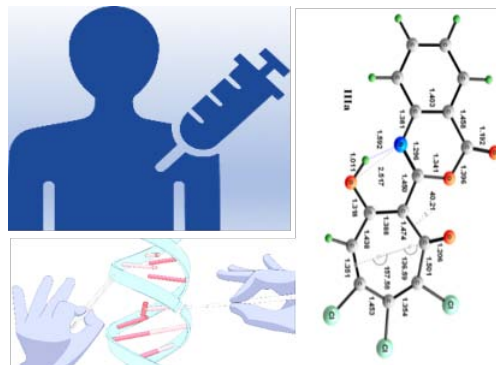
Современное состояние проблемы безопасности страны характеризуется интенсивным разработками, ведущимися в мире не только в оборонной сфере (ядерной, ракетной и др.), но и в области биологических исследований, в основном в результате внедрения в практику научных разработок эффективных методов генетического обмена и редактирования генома. Результаты, которые могли быть получены 20–30 лет назад за несколько лет или вообще не получены, сейчас достигаются в течение нескольких недель. Положение осложняется еще и тем, что мы не имеем представления об уровне соответствующих разработок в лабораториях развитых стран, и ограничениями в доступе к современным материалам, реагентам и оборудованию.

В отношении опасных, в особенности высококонтагиозных, бактериальных инфекций основным направлением в обеспечении биологической безопасности следует признать создание средств специфической профилактики – вакцин, иммуноглобулинов, купирующих токсические состояния и блокирующих другие факторы вирулентности (например, ферменты), к которым относятся в настоящее время инновационные терапевтические человеческие моноклональные антитела, а также биологических средств уничтожения патогенных бактерий, отличных от антибиотиков (фаговые ферменты, бактериоцины, дефензины и др.), которые могут быть использованы или самостоятельно, или в сочетании с другими антибактериальными средствами.

ФБУН ГНЦ ПМБ в последнее десятилетие ведет интенсивные разработки средств специфической профилактики особо опасных бактериальных инфекций, т.е. первого эшелона защиты от патогенов, значимых в биологической безопасности. Долгое время до начала данных исследований такие средства не разрабатывались по ряду причин – противодействие данному направлению США в рамках международных программ, недостаток финансирования, отсутствие заделов. Основная концепция данного направления – кто занимается иммунопатогенезом, тот занимается вирулентностью. Таким образом, данное направление является приоритетным в создании средств обеспечения биологической безопасности. К особенностям и преимуществам современных субъединичных генно-инженерных вакцин следует отнести их низкую, по сравнению с живыми, реактогенность и отсутствие нежелательных отдаленных последствий после применения, возможность использования в качестве средств экстренной профилактики, в т.ч. в условиях применения превентивной антибиотикотерапии, возможность аэрозольного применения для форм инфекционных болезней, для которых парентеральное введение не эффективно, возможность использования различных адъювантов, усиливающих протективность, возможность использования средств доставки к целевым органам, возможность использования вместе с наночастицами для повышения эффективности и др.

Для ускоренного создания средств специфической профилактики опасных инфекционных заболеваний при возникновении эпидемиологических осложнений во ФБУН ГНЦ ПМБ разработан ряд платформенных решений, позволяющих создавать вакцинные препараты современного уровня на основе подготовленных генетических конструкций и антигенов. К разработанным платформам относятся: живые прецизионно аттенуированные вакцины, субъединичные белковые или гликопротеидные вакцины, субъединичные полисахаридные вакцины, бактериальные тени, везикулы, наноккомпартаменты или инкапсулины. Сочетание платформ позволяет существенно повысить специфическую эффективность антибактериальных вакцин.

Всего в мире для создания бактериальных вакцин используется порядка десяти платформ: живые аттенуированные бактерии, живые рекомбинантные бактерии, на основе цельноклеточного антигена, субъединичные, в т.ч. на основе анатоксинов, полисахаридные единичные или конъюгированные, везикулы бактерий, бактериальные тени, на основе плазмидных ДНК, на основе вирусных или бактериальных векторов и некоторые другие. В последнее время значительно интенсифицировались разработки с использованием наноча-



стиц в качестве компонентов вакцин. В частности, используются наночастицы с хитозаном, с оксидом цинка, кремнеземные, наносферы поли-со-гликолевой кислоты, на основе полиангидрида S и наночастиц желтого карнаубского воска. В основном попытки создания вакцин с наночастицами предпринимаются в отношении туберкулеза, некоторых особо опасных инфекций (чума, сибирская язва) и кишечных патогенов. Что касается вакцин на основе мРНК, то такие попытки предпринимаются, но в отношении бактериальных инфекций они пока малоэффективны в силу сложности индукции протективности, когда нужно получить иммунный ответ не на один, а на комплекс антигенов. Имеется сообщение только об одной успешной антибактериальной мРНК-вакцине против «опасной бактерии», разработанной израильскими учеными, однако не ясно, какая именно вакцина имеется в виду.

О фактических достижениях по разработке вакцин против особо опасных инфекций в западных странах сведений крайне мало, что связано с закрытием большинства гражданских грантов в США начиная примерно с 2012 г. и перенесением исследований в учреждения Минобороны. Есть сведения только о разработке в мире четырех противоэшерихиозных вакцин (на разных стадиях доклиники и клиники), создание которых настоятельно рекомендует Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). Кроме того, есть сведения о разработках рекомбинантных бруцеллезных вакцин в Китае, Казахстане и США.

Генно-инженерными методами в ГНЦ ПМБ получен трехкомпонентный препарат прототипа чумной вакцины, состоящий из капсульного антигена, модифицированного V-антигена и теней клеток с интегрированными в клеточную стенку белками, значимыми в иммуногенезе. Доклинические исследования на мелких животных показали высокую эффективность и безопасность данной вакцины при двукратном введении. В декабре 2024 г. закончены клинические исследования на крупных животных – павианах гамадрилах. В результате испытаний вакцины ни одно из опытных животных из трех групп не только не пало от чумы, но и не проявило признаков заболевания или плохого самочувствия. Контрольные зараженные животные пали от чумы на 3–4-е сутки. Данные острые опыты по определению протективности на обезьянах проводились в филиале 48 НИИ МО (г. Киров) силами его сотрудников.

Таким образом, был получен высокоэффективный препарат чумной вакцины, который может со временем заменить живую вакцину EV чумного микроба или использоваться для ревакцинации после ее первичного введения. В мировой литературе субъединичные противочумные вакцины с таким уровнем эффективности не описаны. Дальнейшие разработки будут связаны с клиническими испытаниями препарата, созданием систем контроля стандартности компонентов, оптимизацией производственных процессов и регистрацией вакцины и изучением тактики ее применения.

Субъединичную вакцину против туляремии до настоящего времени в мире получить не удалось, хотя уже несколько десятилетий в этом направлении работает ряд специализированных групп исследователей. В ГНЦ ПМБ разработан препарат живой улучшенной вакцины на основе вакцинного штамма 15 НИИЭГ. Генно-инженерными методами в штамме устранены гены, вызывающие нестабильность популяции, что при производственных процессах приводило к накоплению низкоиммуногенных R-вариантов, а также элиминированы два из четырех генов супероксиддисмутазы, что способствовало существенному снижению реактогенности живой вакцины. Исследование трех серий препаратов в доклинических исследованиях на мелких животных и павианах гамадрилах показало их высокую эффективность. Необходимы клинические исследования новой живой вакцины, разработка и оптимизация масштабного производства препарата, усовершенствование методов контроля и стандартизации, регистрация препарата. Не должна оставаться без внимания и проблема создания субъединичной туляремийной вакцины.

Основным компонентом экспериментальной субъединичной противосибиреязвенной вакцины ВССА (вакцина сибиреязвенная субъединичная адсорбированная), разработанной в ГНЦ ПМБ, является гибридный белок rLF1PA4, состоящий из доменов протективного антигена и летального фактора сибиреязвенного микроба, сорбированный на гидроокиси алюминия. Вспомогательный компонент, усиливающий протективность основного специфического слитного белка, – рекомбинантный белок OmpA *Shigella flexneri*. Исследования протективности проводились на моделях морских свинок и золотистых хомячков при двукратной вакцинации с дозировкой белков 100 мкг белка основного компонента на животное. Протективность при заражении двухплазмидным штаммом *Bacillus anthracis* 71/12 (в соответствии с требованиями к испытанию вакцин) в дозе 10^5 спор/животное для морских свинок и $5 \cdot 10^4$ для хомячков. Выживаемость животных составляла 90%, что предварительно показывает высокую эффективность разработанной вакцины. Необходимые доклинические исследования уже начаты в 2025 г. на мелких животных (хомячках, свинках, кроликах) и в дальнейшем будут проводиться на павианах гамадрилах. В последующем необходимы клинические испытания, разработка масштабных процессов производства, создание систем контроля и стандартизации, регистрация препарата.

Впервые в мире в ГНЦ ПМБ разработан прототип эффективной вакцины против эшерихиозов, сконструированной по модульному типу. Вакцина содержит компоненты полисахаридов энтерогемморагического штамма O157:H7 и энтероаггративного O104:H4, а также генно-инженерный антитоксический компонент токсина 2-го типа, содержащего A- и B-субъединицы (Stx2AB – слитный белок). Эффективность вакцины про-

тив данных штаммов, имеющих высокую значимость для биологической безопасности, составляет 100% на лабораторных животных. Кроме того, эксперименты показали, что препарат эффективен и против других серовариантов эшерихиозов, несущих токсин 2-го типа, – O26:H11, O181:H4 и некоторых других. По-видимому, это связано с блокированием действия токсина и предотвращением адгезии клеток к энтероцитам благодаря синергическому действию противополополисахаридных антител к другим серовариантам. В вакцине, благодаря модульному принципу, могут быть изменены полисахаридные компоненты в зависимости от штамма, вызвавшего эпидемические осложнения. В 2025 г. начаты доклинические испытания на мелких животных, которые необходимо продолжить, а затем провести испытания на крупных животных и клинические исследования.

Прототипы субъединичных вакцин против чумы, сибирской язвы и эшерихиозов являются инновационными, получены впервые в мире, проявляют высокую протективную активность, низкореактогенны, безопасны, могут быть использованы одновременно с превентивной профилактикой антимикробными средствами, что позволяет считать необходимым их внедрение в практику для обеспечения биологической безопасности страны.

Уже накопленный опыт, разработанные технологические платформы – технологии получения субъединичных рекомбинантных вакцин, а также наличие подготовленных для реализации данного направления генных инженеров позволяют утверждать, что линейка вакцинных препаратов против особо опасных бактериальных инфекций должна быть непременно расширена. В этой связи представляется важным создание современных вакцин против бруцеллеза, сапа, мелиоидоза, холеры, легионеллеза (относится к III группе патогенности, но в силу патогенного потенциала представляет значительную опасность) и некоторых других инфекций.

В отношении бруцеллеза в ГНЦ ПМБ ведутся работы по созданию прототипа рекомбинантной вакцины нового поколения методами обратной вакцинологии. Разработка находится в начальной стадии развития. Получено 58 рекомбинантных единичных и слитых белков бруцелл, а также мультисубъединичный белок MEV1. В Государственной коллекции ГНЦ ПМБ депонированы 188 рекомбинантных экспрессионных штаммов *Escherichia coli* и *Pichia pastoris*. Проведены лабораторные испытания на животных по оценке иммуногенности 47 белков. Проводятся лабораторные испытания на животных по оценке протективности четырех коктейлей из 20 белков бруцелл. Проводятся исследования по получению оптимальных штаммов-продуцентов иммунодоминантных антигенов на основе различных микроорганизмов и генетических конструкций.

Одно из направлений исследований для ускоренной разработки вакцин связано с созданием банка генетических конструкций для реализации вакцинных платформ и свода методологий быстрой разработки средств специфической профилактики. Данная задача состоит из нескольких мероприятий. Это создание коллекции генетических инструментов для разработки вакцин, свод методологий; создание на базе Государственной коллекции ГНЦ ПМБ банка генов и продуцентов протективных антигенов патогенных микроорганизмов и банка тотальных ДНК микроорганизмов I–IV групп патогенности; создание в рамках «Национального интерактивного каталога патогенных микроорганизмов и биотоксинов» раздела по генетическим конструкциям и продуцентам для учреждений разработчиков вакцин, банка данных факторов патогенности и их продуктов; создание пилотных технологий производства вакцин; создание пилотных технологий наработки препаративных количеств поливалентных кандидатных живых и химических вакцин, в т.ч. на основе векторных штаммов *F. tularensis*, предназначенных для профилактики инфекций, вызванных внутриклеточными патогенами; наработка препаративных количеств компонентов поливалентных кандидатных вакцин, предназначенных для профилактики инфекций; создание экспериментальных животных моделей для воспроизведения актуальных инфекционных болезней.

Как показывают исследования последних лет в ГНЦ ПМБ в области иммунопрофилактики, наиболее эффективным методом конструирования рекомбинантных субъединичных вакцин является сочетание нескольких платформ для достижения максимального протективного эффекта.

Наиболее значимым результатом в данной области является создание прототипа полисахаридной вакцины против *Klebsiella pneumoniae* капсульных типов K2, K1, K57 в сочетании с клеточными теньями и конъюгированной полисахаридной бивалентной вакцины против *Salmonella Enteritidis* и *Salmonella Typhimurium*, также в сочетании с теньями клеток. Особое значение в постковидный период приобретает разработка (настоятельно рекомендуемая ВОЗ) клебсиеллезной вакцины, так как значительно увеличилось количество вызываемых данным возбудителем инфекций, усилилась вирулентность и значительно возросла резистентность к антибиотикам.

Таким образом, для обеспечения биологической безопасности страны в современный период необходимо интенсифицировать научно-исследовательские разработки в области вакцинологии, осуществляемые с использованием новых генно-инженерных методологий, и обеспечить внедрение их результатов в производство, практику здравоохранения и комплекс мероприятий по защите населения от инфекций.