

УДК: 615

DOI: 10.24412/2075-4094-2025-6-3-3 EDN GPWTUJ **



ОЦЕНКА АЛЛЕРГИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСА АНТИГЕНОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ

Н.Г. СИДОРОВ*, Н.А. МИХАЙЛОВА*, А.В. СОЛДАТЕНКОВА*, Э.В. КУДРЯВЦЕВА**, В.В. ГУРЕЕВ**

* ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»

Малый Казенный пер., д. 5А, г. Москва, 105064, Россия

** ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России

ул. Академика Чазова, д. 15а, г. Москва, 121552, Россия

Аннотация. *Введение.* Респираторные инфекции являются одной из наиболее распространённых и социально значимых групп заболеваний. В связи с ограниченной эффективностью традиционной антибактериальной терапии, особенно у пациентов с нарушениями иммунитета, возникает необходимость разработки новых препаратов, способных усиливать врождённый иммунный ответ. Одним из перспективных подходов является использование препаратов на основе антигенов условно-патогенных бактерий для модуляции врождённого иммунитета, а также обоснование эффективных способов их доставки. **Цель исследования.** Оценить аллергизирующее действие как один из показателей безопасности антигенного комплекса условно-патогенных бактерий, содержащего мукоадгезивный агент с иммуностимулирующими свойствами. **Материалы и методы исследования.** Объектом исследования являлся комплекс антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus* с добавлением сополимера 2-метил-5-винилпиридина и *N*-винилпирролидона гидрохлорида (препарат). Для оценки гиперчувствительности замедленного типа использовали 30 мышей линии СВА (15 самцов и 15 самок) массой 20–22 г. Животных рандомизировали по массе и разделили на три группы по 10 особей. Препарат вводили подкожно в дозах 3 мкг/кг (терапевтическая доза) или 30 мкг/кг (10-кратная доза) в смеси с полным адьювантом Фрейнда, контрольная группа получала физиологический раствор с адьювантом. Через 5 дней вводили препарат в подушечку задней лапы, реакцию оценивали по изменению массы лап через 48–72 часа. Для изучения реакции общей анафилаксии использовали 30 морских свинок (по 15 самцов и самок) массой 250–300 г. Животных разделили на три группы по 10 особей. Первую дозу препарата вводили подкожно, вторую и третью — внутримышечно с интервалом в 1 день. Дозы соответствовали 3 мкг/кг или 30 мкг/кг, контрольная группа получала физиологический раствор. На 14-й день вводили внутрисердечно разрешающую дозу, равную суммарной сенсибилизирующей дозе. Интенсивность анафилактического шока оценивали по шкале Weigle. **Результаты и их обсуждение.** При введении терапевтической дозы препарата мышам не наблюдалось признаков аллергизации — соотношение массы и отечности лап не отличалось от контроля. При 10-кратной дозе отмечено статистически значимое увеличение массы и отёчности опытной лапы, что могло быть связано с присутствием липополисахаридов в антигенах грамотрицательных бактерий. У морских свинок анафилактическая реакция по шкале Weigle отсутствовала во всех группах. При этом введение десятикратной дозы сопровождалось незначительным повышением ректальной температуры, предположительно за счёт увеличенного содержания липополисахаридов, и не расценивалось как проявление анафилактической реакции. **Заключение.** Изучаемый препарат не проявлял аллергизирующего действия при введении в терапевтической дозе, что свидетельствует о его потенциальной безопасности при возможном клиническом применении.

Ключевые слова: условно-патогенные бактерии, антигенные комплексы, аллергизирующее действие

ASSESSMENT OF THE ALLERGENIC ACTIVITY OF A COMPLEX OF ANTIGENS FROM OPPORTUNISTIC BACTERIA

N.G. SIDOROV*, N.A. MIKHAYLOVA*, A.V. SOLDATENKOVA*, E.V. KUDRYAVTSEVA**,
V.V. GUREEV**

*Federal State Budgetary Scientific Institution “I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera”
5A Maly Kazenny Lane, Moscow, 105064, Russia

**Federal State Budgetary Institution “E.I. Chazov National Medical Research Center of Cardiology” of the
Ministry of Health of Russia, 15a Akademik Chazov Street, Moscow, 121552, Russia

Abstract. *Introduction.* Respiratory infections are among the most common and socially significant groups of diseases. Due to the limited effectiveness of conventional antibacterial therapy, particularly in patients with impaired immunity, there is a need to develop new agents capable of enhancing the innate immune re-

sponse. One promising approach involves the use of preparations based on antigens of opportunistic bacteria to modulate innate immunity, as well as the justification of effective delivery methods. **The aim of the study** is to evaluate the allergenic effect as one of the safety indicators of an antigen complex of opportunistic bacteria containing a mucoadhesive agent with immunostimulatory properties. **Materials and methods.** The object of the study was a complex of antigens from *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, and *S. aureus* with the addition of a copolymer of 2-methyl-5-vinylpyridine and *N*-vinylpyrrolidone hydrochloride (the preparation). Delayed-type hypersensitivity was assessed using 30 CBA mice (15 males and 15 females) weighing 20–22 g. Animals were randomized by weight and divided into three groups of 10. The preparation was administered subcutaneously at doses of 3 µg/kg (therapeutic dose) or 30 µg/kg (10-fold dose) mixed with complete Freund's adjuvant; the control group received saline with adjuvant. After 5 days, the preparation was injected into the hind paw pad, and the reaction was assessed by the change in paw mass after 48–72 hours. To study the general anaphylaxis response, 30 guinea pigs (15 males and 15 females) weighing 250–300 g were used. Animals were divided into three groups of 10. The first dose of the preparation was administered subcutaneously, and the second and third doses intramuscularly at 1-day intervals. Doses were 3 µg/kg or 30 µg/kg; the control group received saline. On day 14, a resolving dose equal to the total sensitizing dose was administered intracardially. The severity of anaphylactic shock was assessed using the *Weigle* scale. **Results and discussion.** Administration of the therapeutic dose to mice did not induce signs of allergenicity—the ratio of paw mass and edema did not differ from the control. At the 10-fold dose, a statistically significant increase in paw mass and edema was observed, which may have been associated with the presence of lipopolysaccharides in antigens of Gram-negative bacteria. In guinea pigs, no anaphylactic reaction was observed by the *Weigle* scale in any group. Administration of the 10-fold dose was accompanied by a slight increase in rectal temperature, presumably due to the higher lipopolysaccharide content, and was not considered an anaphylactic response. **Conclusion.** The studied preparation did not exhibit allergenic effects when administered at the therapeutic dose, indicating its potential safety for possible clinical application.

Keywords: opportunistic bacteria, antigen complexes, allergenic effect

Введение. Респираторные инфекции продолжают оставаться одними из наиболее распространённых и социально значимых заболеваний, отличающихся высокими уровнями заболеваемости и летальности. Наряду с вирусными агентами, важную роль в этиологии данных инфекций играют условно-патогенные микроорганизмы, характеризующиеся широкой распространённостью и видовым разнообразием [2, 4, 5]. Применяемые на сегодняшний день антибактериальные средства зачастую оказываются недостаточно эффективными, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом. Дополнительную проблему составляет рост антибиотикорезистентности среди бактериальных возбудителей, что существенно ограничивает терапевтические возможности. Это обуславливает необходимость разработки подходов, направленных на активацию врождённого иммунного ответа, включая использование средств, содержащих антигены условно-патогенных бактерий, а также обоснование эффективных способов их доставки [3].

Поскольку они могут являться основой лекарственных средств, необходимо в доклинических исследованиях оценить их токсикологический профиль, в частности аллергизирующее действие.

Цель исследования – оценить аллергизирующее действие как один из показателей безопасности антигенного комплекса условно-патогенных бактерий, содержащего мукоадгезивный агент с иммуностимулирующими свойствами.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлся комплекс антигенов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. aureus* с добавлением сополимера 2-метил-5-винилпиридина и *N*-винилпирролидона гидрохлорида (препарат), в качестве мукоадгезивного агента, обладающего иммуностимулирующими свойствами. Антигены получены по методике, описанной в патенте [1].

В эксперименте по оценке гиперчувствительности замедленного типа использовано 30 мышей линии CBA (15 самцов и 15 самок) массой 20-22 г. (Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ). В исследовании по оценке формирования реакции общей анафилаксии использовано 30 морских свинок (по 15 самцов и самок) массой 250-300 г. (Научно-производственная база ФГБУН НЦБМТ ФМБА «Столбовая»).

Для изучения влияния препарата на развитие гиперчувствительности замедленного типа у мышей было сформировано три группы животных (по 10 особей в каждой), рандомизированных по массе тела (допустимое отклонение – не более 10 %). Препарат вводили подкожно в двух дозах: 3 мкг/кг (терапевтическая доза) или 30 мкг/кг (доза, превышающая терапевтическую в 10 раз). Сенсибилизацию проводили однократным подкожным введением в основание хвоста 60 мкл эмульсии препарата с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ) в соотношении 1:1.

1-я группа получала исследуемый препарат подкожно в дозе 3 мкг/кг в смеси с ПАФ.

2-я группа получала препарат подкожно в дозе 30 мкг/кг в смеси с ПАФ.

3-я группа (контрольная) получала физиологический раствор с ПАФ.

На 5-е сутки после сенсибилизации всем животным вводили по 40 мкл препарата в подушечку задней лапы. Через 48–72 часа регистрировали развитие ГЗТ. Затем мышей подвергали эвтаназии путем

цервикальной дислокации шейных позвонков. Лапы задних конечностей отделяли, определяли их массу до высушивания, затем помещали в термостат на 48 часов и вновь взвешивали.

Результаты реакции регистрировали путем определения массы «опытной» и «контрольной» лап до и после высушивания. *Индекс реакции* (ИР) для каждого животного определяли по формуле: ИР (%) = $(\text{Моп} - \text{Мк}) / \text{Мк} \cdot 100\%$, где Моп — масса «опытной» лапы; Мк — масса «контрольной» лапы.

Для проведения эксперимента по изучению реакции общей анафилаксии (анафилактического шока) морским свинкам препарат вводили в двух дозах: 3 мкг/кг (терапевтическая доза) или 30 мкг/кг (10-кратная доза). Первая инъекция осуществлялась подкожно, вторая и третья — внутримышечно в область бедра с интервалом в один день. Разрешающую дозу вводили внутрисердечно на 14-й день после первичной сенсибилизации, при этом её объём соответствовал суммарной сенсибилизирующей дозе.

Животных распределяли на три группы по 10 особей:

1 группа — препарат в дозе 3 мкг/кг (1-е введение — подкожно, 2-е и 3-е — внутримышечно). Разрешающая доза — 9 мкг/кг (внутрисердечно на 14-й день).

2 группа — препарат в дозе 30 мкг/кг, по той же схеме. Разрешающая доза — 90 мкг/кг.

3 группа (контрольная) — вводили физиологический раствор по идентичной схеме. Разрешающая инъекция также проводилась внутрисердечно на 14-й день.

Выраженность анафилактического шока оценивали по шкале *Weigle*:

+ — кратковременное почесывание носа, взъерошивание шерсти, падение температуры тела (не менее, чем на 1°C):

++ — четко выраженные частые почесывания, единичные чихания, падение температуры тела;

+++ — спастический кашель, боковое положение животного, отделение кала и мочи;

++++ — спазм дыхательных путей, конвульсивные прыжки, судороги. Животное погибает (как правило, на 5-й мин).

Кроме этого, у морских свинок измеряли ректальную температуру до внутрисердечного введения препарата (*t1*) и через 2 часа после (*t2*).

Статистическую обработку всех полученных количественных данных проводили с помощью статистической программы «BioStat 2007», вычисляя выборочное среднее значение (*M*) и стандартную ошибку среднего (*m*). Для определения достоверности межгрупповых различий полученные данные анализировали с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при *p* < 0,05.

Результаты и их обсуждение. Оценка влияния препарата на гиперчувствительность замедленного типа у мышей показала, что его введение в дозе 3 мкг не вызывало реакцию, статистически значимо отличавшуюся от контрольной группы. В группе животных, получавших дозу 30 мкг/кг, наблюдали достоверное увеличение массы и содержания жидкости в опытной лапе по сравнению с группой животных, получавших препарат в меньшей дозе и контрольной группой (табл. 1, 2).

Таблица 1

Влияние исследуемого препарата на содержание жидкости в лапах при оценке гиперчувствительности замедленного типа ($M \pm m$)

Группы	Содержание жидкости в правой лапе, %	Содержание жидкости в левой лапе, %	Индекс соотношения содержания жидкости, %
Контрольная (<i>n</i> = 10)	37,82 ± 0,0009	37,93 ± 1,31	0,26 ± 2,17
3 мкг/кг (<i>n</i> = 10)	42,96 ± 0,064	42,99 ± 0,074	0,07 ± 0,89
30 мкг/кг (<i>n</i> = 10)	39,64 ± 0,54	42,46 ± 0,53*	7,63 ± 1,10^{*^}

Примечания: * — при *p* < 0,05 по сравнению с группой контрольных животных; ^ — *p* < 0,05 по сравнению с группой животных, получавших препарат в меньшей дозе

Таблица 2

Влияние исследуемого препарата на массу лап при оценке гиперчувствительности замедленного типа ($M \pm m$)

Группы	Масса контрольной лапы, г	Масса опытной лапы, г	Индекс реакции, %
Контрольная (n = 10)	0,12 ± 0,0009	0,13 ± 0,0014	5,23 ± 1,06
3 мкг/кг (n = 10)	0,12 ± 0,0024	0,12 ± 0,0024	1,53 ± 0,31
30 мкг/кг (n = 10)	0,12 ± 0,0033	0,16 ± 0,0040^{*^}	37,21 ± 2,78 ^{*^}

Примечания: * – при $p < 0,05$ по сравнению с группой контрольных животных; ^ – $p < 0,05$ по сравнению с группой животных, получавших препарат в меньшей дозе

Увеличение массы и выраженности отёка опытной лапы у животных, получавших 10-кратную дозу препарата, вероятно связано с присутствием липополисахаридов (ЛПС), входящих в состав антигенных компонентов грамотрицательных бактерий.

У морских свинок на введение препарата не наблюдалось общей анафилактической реакции: индекс Weigle оставался равным нулю во всех исследуемых группах. При этом введение десятикратной дозы (30 мкг/кг) вызывало незначительное повышение ректальной температуры (табл. 3).

Таблица 3

Влияние исследуемого препарата на ректальную температуру морских свинок при исследовании общей анафилаксии ($M \pm m$)

Группы	Ректальная температура	
	t1	t2
Контрольная (n = 10)	38,58 ± 0,07	38,81 ± 0,13
3 мкг/кг (n = 10)	38,75 ± 0,10	38,99 ± 0,10
30 мкг/кг (n = 10)	38,71 ± 0,10	39,13 ± 0,1*

Примечания: * – при $p < 0,05$ по сравнению с температурой до введения 30 мкг/кг; t1 – температура перед введением разрешающей дозы исследуемого препарата; t2 – температура через 2 часа после введения разрешающей дозы исследуемого препарата

Умеренное повышение температуры тела у животных, получавших 10-ти кратную терапевтическую дозу через 2 часа после введения разрешающей дозы исследуемого препарата, по-видимому, связано с увеличением количества ЛПС в исследуемой дозе и не являлось признаком анафилактической реакции.

Заключение. Изучаемый препарат не проявлял аллергизирующего действия при введении в терапевтической дозе, что свидетельствует о его потенциальной безопасности при возможном клиническом применении.

Литература

1. Михайлова Н.А., Солдатенкова А.В., Грубер И.М., Курбатова Е.А., Свитич О.А., Зверев В.В., Лазарев С.А., Асташкина Е.А. Способ получения поликомпонентной вакцины на основе антигенов условно-патогенных микроорганизмов. Патент РФ № 2799527. Опубликован 05.07.2023 Бюл. № 19.
2. Calderaro A., Buttrini M., Farina B., Montecchini S., De Conto F., Chezzi C. Respiratory Tract Infections and Laboratory Diagnostic Methods: A Review with A Focus on Syndromic Panel-Based Assays // Microorganisms. 2022. Vol. 10, № 9. P.1856. DOI: 10.3390/microorganisms10091856.
3. Cazzola M., Anapurapu S., Page C.P. Polyvalent mechanical bacterial lysate for the prevention of recurrent respiratory infections: a meta-analysis // Pulm Pharmacol Ther. 2012. Vol. 25, №1. P. 62–68. DOI: 10.1016/j.pupt.2011.11.002.
4. GBD 2021 Upper Respiratory Infections Otitis Media Collaborators. Global, regional, and national burden of upper respiratory infections and otitis media, 1990–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021 // Lancet Infect Dis. 2025. Vol. 25, №1. P.36–51. DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00430-4.

5. Lee R.A., Boucher H.W. Respiratory Tract Infections in the Postpandemic Era: A Return to Basics and Call to Action // Infect Dis Clin North Am. 2024. Vol. 38, №1. P. xiii–xv. doi: 10.1016/j.idc.2023.11.002.

References

1. Mikhailova NA, Soldatenkova AV, Gruber IM, Kurbatova EA, Svitich OA, Zverev VV, Lazarev SA, Astashkina EA. Sposob polucheniya polikomponentnoj vakciny na osnove antigenov uslovno-patogennyh mikroorganizmov. [Method of obtaining a multicomponent vaccine based on antigens of opportunistic microorganisms]. Patent RU No 2799527. Publ. 05.07.2023 Bull. No 19. Russian.
2. Calderaro A, Buttrini M, Farina B, Montecchini S, De Conto F, Chezzi C. Respiratory Tract Infections and Laboratory Diagnostic Methods: A Review with A Focus on Syndromic Panel-Based Assays. Microorganisms. 2022;10(9):1856. DOI: 10.3390/microorganisms10091856.
3. Cazzola M, Anapurapu S, Page CP. Polyvalent mechanical bacterial lysate for the prevention of recurrent respiratory infections: a meta-analysis. Pulm Pharmacol Ther. 2012;25(1):62–68. DOI: 10.1016/j.pupt.2011.11.002.
4. GBD 2021 Upper Respiratory Infections Otitis Media Collaborators. Global, regional, and national burden of upper respiratory infections and otitis media, 1990–2021: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2021. Lancet Infect Dis. 2025;25(1):36–51. DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00430-4.
5. Lee RA, Boucher HW. Respiratory Tract Infections in the Postpandemic Era: A Return to Basics and Call to Action. Infect Dis Clin North Am. 2024;38(1):xiii–xv. DOI: 10.1016/j.idc.2023.11.002.

Библиографическая ссылка:

Сидоров Н.Г., Михайлова Н.А., Солдатенкова А.В., Кудрявцева Э.В., Гуреев В.В. Оценка аллергизирующего действия комплекса антигенов условно-патогенных бактерий // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2025. №6. Публикация 3-3. URL: <http://www.vnmt.ru/Bulletin/E2025-6/3-3.pdf> (дата обращения: 09.12.2025). DOI: 10.24412/2075-4094-2025-6-3-3. EDN GPWTUJ*

Bibliographic reference:

Sidorov NG, Mikhailova NA, Soldatenkova AV, Kudryavtseva EV, Gureev VV. Ocenna allergiziruyushchego dejstviya kompleksa antigenov uslovno-patogennyh bakterij [Assessment of the allergenic activity of a complex of antigens from opportunistic bacteria]. Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2025 [cited 2025 Dec 09];6 [about 5 p.]. Russian. Available from: <http://www.vnmt.ru/Bulletin/E2025-6/3-3.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2025-6-3-3. EDN GPWTUJ

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://www.vnmt.ru/Bulletin/E2025-6/e2025-6.pdf>

**идентификатор для научных публикаций EDN (eLIBRARY Document Number) будет активен после выгрузки полной версии журнала в eLIBRARY