

**МАТЕРИАЛЫ
КОНГРЕССА**

**CONGRESS
PROCEEDINGS**



ТОМ 2 / PART 2

IX МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

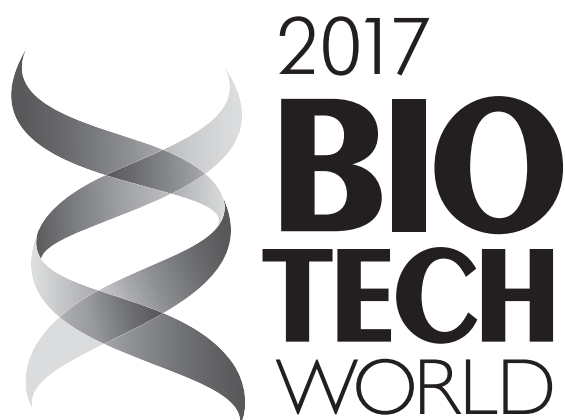
IX INTERNATIONAL CONGRESS

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

**20-22 ФЕВРАЛЯ 2017
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4**

**20-22 FEBRUARY, 2017
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW**



WWW.BIOMOS.RU

TOM 2 / PART 2

IX МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

IX INTERNATIONAL CONGRESS

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

**20-22 ФЕВРАЛЯ 2017
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4**

**20-22 FEBRUARY, 2017
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW**

vaccine, it is important to take into account that live vaccines containing replicating virus carry the risk of reversion to the virulent form, and that propagation of virus in human cell lines is a rather expensive process.

Plant viruses are promising tools for design a new generation of vaccines. One of the main advantages of plant viruses is biological safety due to the lack of common pathogens in plants and animals.

Previously it has been shown that spherical particles of protein nature formed under the thermal denaturation of rod-shaped helical tobacco mosaic virus particles. The particles are stable, immunogenic, biodegradable, and have a high adsorption activity.

Based on the spherical particles as an adjuvant and rubella virus recombinant antigen candidate vaccine against rubella was obtained. Preclinical trials of candidate vaccines that have shown its high efficiency were conducted. It has been demonstrated that the vaccine induces a strong humoral immune response with high titers of IgG1 antibodies, which play a key role in the immune response against natural infection. Importantly that rubella virus antigen in blood of immunized animals produce significantly greater amount of antibodies than the adjuvant (spherical particles). Comparison of the efficacy of spherical particles as an adjuvant with adjuvants used in human vaccines and laboratory practice was conducted. Mutagenicity, allergenicity, chronic toxicity, subchronic toxicity, embryotoxicity and immunotoxicity of candidate vaccine were studied. The vaccine has shown its complete safety for the studied parameters in animal models. The optimum doses and ratios of rubella virus antigen and adjuvant were selected. Thus, candidate vaccine based on spherical particles can be an effective and safe tool against the rubella virus.

УДК: 612.017.12, ББК:

ИММУНОАНАЛИЗ КАПСУЛЬНОГО ПОЛИСАХАРИДА STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE ТИПА 9N ДЛЯ КОНТРОЛЯ КОМПОНЕНТОВ ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

Р.И.Нуриев, И.А.Гальвидис, Н.Е.Ястребова, М.А.Буркин

ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, Россия, 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5а, mech.inst@mail.ru, +7(495)917-49-00

Получены конъюгат овальбумина с полисахаридом 9N *S. pneumoniae* и соответствующей специфичности поликлональные антитела, на их основе разработан иммуноферментный анализ для типирования штаммов пневмококка, выявления полисахаридного антигена в биожидкостях организма, вакцинных препаратов, а также для исследования иммунного ответа у вакцинированных лиц.

Ключевые слова: иммуноанализ; капсульный полисахарид; гликоконъюгат; пневмококковая вакцина; серодиагностика.

Разработка отечественной конъюгированной вакцины против пневмококковой инфекции предполагает качественную и количественную оценку отдельных полисахаридных антигенов (Ps) в процессе их выделения и очистки, в составе конъюгатов, а также создание методов исследования иммунного ответа, как у экспериментальных животных, так и у вакцинированных или инфицированных лиц.

В качестве модельного антигена был взят капсульный полисахарид *S. pneumoniae* типа 9N (Ps9N), который входит в состав полисахаридов 23-валентной вакцины «Пневмо-23», но отсутствует в составе гликоконъюгатов вакцин «Превенар-7» и «Превенар-13». На основе полисахарида был приготовлен конъюгат с овальбумином (OVA-Ps9N), который использовался в качестве твердофазного антигена. Благодаря своим адсорбционным свойствам, OVA-Ps9N позволил в 30 раз, в сравнении с Ps-препаратом, сократить расход антигенного материала и таким образом снизить уровень неспецифических взаимодействий при исследовании иммунного ответа у животных.

В результате многократной иммунизации кроликов штаммом *S. pneumoniae* серотипа 9N получены поликлональные антитела и разработан конкурентный вариант иммуноферментного анализа (ИФА). Исследование перекрестной реактивности с PS-препаратами серотипов 3, 4, 5, 6A, 7F, 9V, 14, 15B, 18, 19F, 23F выявило абсолютную специфичность анализа в отношении Ps9N, чувствительность (IC50) которого составила 33 нг/мл, а предел определения (IC80) – 2.5 нг/мл. Дополнительное исследование специфичности анализа на суспензиях (10⁹ м.к./мл) пневмококка серотипов 1-33 подтвердило селективность теста в отношении серотипа 9N. Возможность идентификации *S. pneumoniae* типа 9N (IC50=106 м.к./мл), а также выявления Ps9N в сыворотке крови и моче позволяет рассматривать этот тест в качестве диагностического – для типирования возбудителя.

Разработанная ИФА-система может найти применение для качественной и количественной характеристики

компонентов противопневмококковых вакцин в процессе их производства – от наработки антигенного материала и тестирования опытных образцов гликоконъюгатов до оценки поствакцинального иммунитета населения.

Финансирование: Финансовая поддержка при проведении исследований не оказывалась.

IDENTIFICATION OF STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE CAPSULAR POLYSACCHARIDE TYPE 9N IN IMMUNOASSAY FOR VACCINE COMPONENTS CONTROL AND DIAGNOSIS

R.Nuriev, I.Galvidis, N.Yastrebova, M.Burkin

I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Russia, 105064, Moscow, Malyj Kazionnyj per., 5a

The conjugate of ovalbumin with polysaccharide 9N of *S. pneumoniae* and anti-Ps9N polyclonal antibodies were obtained. Using these reagents, we developed ELISA, which is suitable for *S. pneumoniae* serotype 9N identification, detection of polysaccharide antigens in body fluids and vaccines, and assessment of immune responses to vaccination.

Key words: immunoassay; capsular polysaccharide; glycoconjugate; pneumococcal vaccine; serodiagnostics.

The qualitative and quantitative evaluation of polysaccharide antigens is essential in the development of conjugate vaccines against pneumococcal infections, e.g. in processes as antigen production and purification and conjugate synthesis. There is also an absolute necessity to assess the immune responses in experimental animals and vaccinated persons.

As a model antigen we chose capsular polysaccharide of *S. pneumoniae* serotype 9N (Ps9N), which is included in 23-valent polysaccharide vaccine «Pneumo-23», but is not a component of conjugate vaccines «Prevenar-7» or «Prevenar-13». We prepared the conjugate of Ps9N and ovalbumin (OVA-Ps9N) to be used as an immobilized antigen in ELISA. Coating of the conjugate allowed the 30-fold reduction of antigen demand in immunoassay in comparison with the use of Ps9N. As a result, the nonspecific interactions in the immune response assessments were also diminished.

We obtained polyclonal rabbit antibodies against *S. pneumoniae* serotype 9N after repeated immunizations and developed indirect competitive ELISA. The cross-reactivity examinations with polysaccharides from serotypes 3, 4, 5, 6A, 7F, 9V, 14, 15B, 18, 19F, 23F showed absolute specificity of assay to Ps9N. The sensitivity (IC₅₀) of this assay was 33 ng/ml, and the limit of detection (IC₈₀) was 2.5 ng/ml. The additional tests for specificity were carried out using pneumococcal bacterial suspensions serotypes 1 to 33 (10⁹ cells per ml), which confirmed the selectivity of the assay for serotype 9N.

The ELISA could be used for the identification of *S. pneumoniae* serotype 9N (IC₅₀=10⁶ cells per ml) and for the detection of Ps9N in serum and urine. Thus, it would be helpful in medical diagnosis.

The assay is suitable for quantitative and qualitative assessments in the different stages of the pneumococcal vaccine development: in the antigen preparations, in the experimental conjugate samples testing, and in the immune response investigations.

УДК: 57.088.1, ББК: 28.492

АНАЛИЗ ОКРУЖЕНИЯ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ КИШЕЧНОЙ МИКРОБИОТЫ ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ ДАННЫХ NGS

Е.И.Олехнович¹, А.Т.Васильев², А.Е.Самойлов³, В.И.Ульянцев⁴, А.В.Тягт⁵

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства России., Россия, 119435, Москва, Малая Пироговская, 1а, jeniaole13@mail.ru, 89251720794

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Россия, 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский проспект, 49, jeniaole13@mail.ru, 89251720794

³Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства России., Россия, 119435, Москва, Малая Пороговская, 1а, jeniaole13@mail.ru, 89251720794

⁴Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и