

Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шига-токсин-продуцирующими *Escherichia coli*. Часть 2

Э.А.Светоч, И.А.Дятлов, Н.Н.Карцев, Б.В.Ерусланов, М.Е.Канашенко, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Профилактика и лечение геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС), вызываемых шига-токсин-продуцирующими *Escherichia coli* (STEC), продолжают оставаться одной из проблем общественного здравоохранения. Основная причина проблемы – отсутствие вакцинных препаратов и противопоказания для применения этиотропных антибактериальных средств лечения данной инфекции. Перспективное научное направление по созданию специфических средств защиты населения от STEC-инфекции – это разработка субъединичных рекомбинантных вакцин. Как показывает анализ результатов экспериментальных исследований, представленных в данном обзоре, эффективные субъединичные вакцины против STEC-инфекции можно создать на основе известных для возбудителей ГК и ГУС иммуногенных детерминант – протеинов EspA, EspB, Tir, интимина, а также антигена H7 O157:H7 и нетоксичных протеинов А и В субъединиц шига-токсинов Stx1 и Stx2. Используя указанные эпитопы, конструируют три типа субъединичных вакцин: антибактериальные, защищающие макроорганизм от системной интоксикации шига-токсинами, и вакцины, индуцирующие одновременно формирование антибактериального и антитоксического иммунитета. Поскольку перечисленные выше эпитопы обладают слабой иммуногенностью, для ее увеличения, как правило, конструируют сложные химерные антигенные структуры, содержащие белки-индукторы, существенно увеличивающие иммунный ответ на целевые специфические эпитопы. Для увеличения иммуногенности эпитопов STEC также широко используют минеральные адъюванты. Все три типа создаваемых кандидатных субъединичных вакцин при подкожной, внутримышечной и интраназальной аппликации антигенов индуцируют у животных образование специфических анти-

Ключевые слова: STEC, геморрагический колит, иммунодоминантные антигены, шига-токсины, EspA, EspB, Tir, интимин, IgG, slgA

Для цитирования: Светоч Э.А., Дятлов И.А., Карцев Н.Н., Ерусланов Б.В., Канашенко М.Е., Фурсова Н.К. Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шига-токсин-продуцирующими *Escherichia coli*. Часть 2. Бактериология. 2020; 5(3): 47–59. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-3-47-59

Development of candidate vaccines against infection caused by shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Part 2

E.A.Svetoch, I.A.Dyatlov, N.N.Kartsev, B.V.Eruslanov, M.E.Kanashenko, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Prevention and treatment of hemorrhagic colitis (HC) and hemolytic uremic syndrome (HUS) caused by Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) continues to be a public health concern. The main reason for the problem is the lack of vaccines and lack of evidence for using of antibacterial etiotropic drugs to treat this infection. A promising scientific approach to create specific agents against STEC infection is the development of subunit recombinant vaccines. The analysis of experimental studies presented in this review shows that effective subunit vaccines against STEC infection can be created on the basis of known immunogenic determinants of HC and HUS causative agents – EspA, EspB, and Tir proteins, intimin, as well as H7 antigen of *E. coli* O157:H7 and nontoxic proteins of Shiga toxins Stx1 and Stx2 A and B subunits. Using these epitopes, three types of subunit vaccines are designed: antibacterial vaccine, vaccine protecting the macroorganism from systemic intoxication caused by Shiga toxins, and vaccines that simultaneously induce the antibacterial and antitoxic immunity. Since the epitopes listed above are weak immunogenic, to increase their immunogenicity, complex chimeric antigenic structures containing protein inducers are constructed that significantly increase the immune response to target specific epitopes. Mineral adjuvants are also widely used to increase the immunogenicity of STEC epitopes. All three types of created candidate subunit vaccines, at

Для корреспонденции:

Фурсова Надежда Константиновна, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967)36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

Статья поступила 21.09.2020 г., принята к печати 12.10.2020 г.

For correspondence:

Nadezhda K. Fursova, leader researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279 Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

The article was received 21.09.2020, accepted for publication 12.10.2020

subcutaneous, intramuscular and intranasal application induce production of specific IgG and secretory IgA antibodies in animals and protect them from the infection caused by the STEC strains.

Key words: *STEC*, *hemorrhagic colitis*, *immunodominant antigens*, *Shiga toxins*, *EspA*, *EspB*, *Tir*, *intimine*, *IgG*, *slgA*

For citation: Svetoch E.A., Dyatlov I.A., Kartsev N.N., Eruslanov B.V., Kanashenko M.E., Fursova N.K. Development of candidate vaccines against infection caused by shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Part 2. Bacteriology. 2020; 5(3): 47–59. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2020-3-47-59

В предыдущей части обзора нами были рассмотрены все основные типы кандидатных вакцин, за исключением субъединичных рекомбинантных, создаваемых в настоящее время против STEC-инфекции человека [1]. Данное сообщение посвящено анализу субъединичных рекомбинантных вакцин, как одному из наиболее популярных и привлекательных на сегодня научных направлений по конструированию специфических препаратов против геморрагического колита (ГК) и гемолитико-уремического синдрома (ГУС), вызываемых у человека шига-токсин-продуцирующими штаммами *Escherichia coli* (STEC).

При конструировании кандидатных субъединичных вакцин используют методы генетической инженерии, которые позволяют в сравнительно короткие сроки клонировать гены протективных антигенов и, используя экспрессирующие векторы, создавать штаммы-продуценты целевых антигенов, нарабатывать и испытывать антигены в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Методы генетической инженерии позволяют также создавать вакцинные препараты на основе не только отдельных иммуногенных детерминант (эпитопов), но и сложных слитных (химерных) белковых антигенов, совмещающих в себе несколько протективных эпитопов, обеспечивающих защиту макроорганизма на основных стадиях патогенеза STEC-инфекции: на стадии адгезии и колонизации и на стадии системной интоксикации шига-токсинами. В состав химерных белков могут быть включены, помимо специфических целевых антигенных детерминант, и белки, способные увеличивать иммунный отклик на целевые антигены, например на слабоиммуногенные А- и В-субъединицы шига-токсинов Stx1 и Stx2. Полученные генно-инженерными методами антигены позволяют исследователю испытывать их иммуногенные свойства в самых разных комбинациях и выбирать наилучшие из них для конструирования субъединичных вакцин. Для конструирования кандидатных вакцин экспериментаторы чаще всего используют хорошо изученные иммуногенные детерминанты энтерогеморрагических *E. coli* (EHEC) – интимин, EspA, EspB, Tir, детоксицированные А- и нетоксичные белки В-субъединиц шига-токсинов Stx1 и Stx2. Испытываются также и вновь открываемые у различных патогенов *E. coli* кандидатные протективные антигены.

Ниже мы представляем краткий анализ некоторых интересных, на наш взгляд, экспериментальных работ по изучению различных по рецептурному составу кандидатных субъединичных вакцин против STEC(ЕHEC)-патогенов, разработанных в последние два десятилетия.

Субъединичные вакцины

Иммуногенные и протективные свойства субъединичных (рекомбинантных) вакцин исследователи испытывали, как правило, либо на лабораторных моделях (чаще на мышах линии BALB/c), либо на сельскохозяйственных животных.

Субъединичные вакцины на основе интимина и протеинов системы III типа секреции EHEC

В 1999 г. Gansheroff et al. доказали, что только антитела к полной молекуле интимина или к его С-терминальному концу (~280 а.к.) EHEC-серотипа O157:H7 способны *in vitro* блокировать или снижать адгезию клеток гомологичного серотипа к линии эпителиальных клеток человека HEp-2 [2]. Авторы установили также, что антитела к интимину *E. coli* O157:H7 могут блокировать адгезию к HEp-2 некоторых других (но не всех) штаммов EHEC-серотипов O55:H7, O111:H11 и O157:H11. Такая избирательность антиадгезивных свойств антител к интимину *E. coli* O157:H7 зависела, как оказалось, от различия аминокислотных последовательностей С-конца интимина у испытанных гетерологичных штаммов *E. coli*. Поэтому в большинстве последующих работ исследователи чаще всего в качестве иммуногенного и протективного антигена использовали интимин-гамма (γ), ассоциированный с высокопатогенным для человека эпидемически важным штаммом EHEC-серотипа O157:H7.

Об эффективности иммуногенных и протективных свойств рекомбинантного интимина (Int 261), продуцируемого растительными клетками трансгенного табака, сообщили Judge et al., которые показали, что однократная внутрибрюшинная иммунизация мышей линии BALB/c рекомбинантным интиминном индуцировала у животных мощный сывороточный (IgG) и секреторный мукозальный (slgA) иммунный ответ [3]. Хороший мукозальный (но не сывороточный) ответ был получен также у мышей после трехкратного скармливания им трансгенных (Int 261+) клеток табака или трансгенных клеток табака вместе с протеином В-субъединицы холерного токсина в качестве адьюванта. Однако наилучший мукозальный ответ у животных был получен при однократной внутрибрюшинной иммунизации мышей препаратом Int 261 и скармливании им трансгенных (Int 261+) клеток табака и химически очищенного препарата В-субъединицы холерного токсина. Все иммунизированные рекомбинантным интиминном животные были лучше защищены от перорального заражения их штаммом *E. coli* O157:H7: концентрация и продолжительность выделения патогена с фекалиями у них были существенно меньше, чем у контрольных (неиммунизированных) мышей.

В работе Babiuk et al. мышей линии BALB/c иммунизировали рекомбинантными белками Tir и EspA двумя способами: интраназальным и подкожным [4]. Было показано, что интраназальная иммунизация указанными протеинами совместно с адьювантами – В-субъединицей холерного токсина или олигонуклеотидом CpG – индуцировала у животных образование высоких титров специфических сывороточных IgG-антител и лишь незначительное количество slgA-антител, обнаруживаемых в фекалиях отдельных животных. Подкожная иммунизация мышей теми же антигенами вызвала у них мощный гуморальный отклик и не индуцировала

мукозального ответа. В то же время иммунизированные и интраназально, и подкожно белками Tir и EspA мыши оказались защищенными от перорального заражения штаммом *E. coli* O157:H7. У животных, иммунизированных подкожно, в фекалиях вообще не обнаруживали клеток патогена, несмотря на то, что в содержимом их кишечника отсутствовали секреторные IgA. У животных, иммунизированных интраназально, количество выделяемых в фекалиях *E. coli* O157:H7 было существенно снижено по сравнению с контрольными (неиммунизированными) животными. На основании полученных результатов авторы высказали предположение, что у мышей, иммунизированных подкожно, колонизация кишечного тракта патогеном была предотвращена за счет IgG-антител, трансдуцировавшихся в кишечную трубку из кровеносного русла животного. Авторы сделали весьма интересный вывод: для предупреждения колонизации патогеном *E. coli* O157:H7 кишечника мышей линии BALB/c не обязательно наличие в кишечном тракте секреторных IgA.

Cataldi et al. провели испытание влияния адьюванта MALP-2 (макрофаг-активирующего липопептида) на иммуногенные свойства рекомбинантного интимина-γ (Int 280) и белка EspB при интраназальной вакцинации мышей BALB/c [5]. В результате проведенных экспериментов было установлено, что адьювант MALP-2 оказывал значительный стимулирующий эффект на иммунный ответ вакцинированного животного: скорость образования и титры специфических IgG- и sIgA-антител к обоим целевым антигенам у мышей, вакцинированных вместе с адьювантом MALP-2, были существенно выше, чем у контрольных мышей, вакцинированных интимин-γ и белком EspB без адьюванта MALP-2. Важно отметить также, что интраназальная иммунизация антигенами вместе с адьювантом MALP-2 индуцировала у мышей активный мукозальный иммунный ответ: специфические sIgA против интимина и белка EspB обнаруживали как в бронхиальном лаваже (в больших титрах), так и в содержимом кишечника (в меньших титрах). Следует отметить еще один интересный факт, полученный в данной работе: у животных, иммунизированных рекомбинантным интимин-γ вместе с адьювантом MALP-2, в содержимом кишечника обнаруживали IgG-антитела, в то время как у мышей, иммунизированных без MALP-2, IgG-антитела отсутствовали. При иммунизации животных белком EspB, даже вместе с MALP-2, IgG-антитела в кишечнике не детектировали. Однако, как отмечают авторы работы, количество специфических IgG в содержимом кишечника было в 2000 раз меньше по сравнению с количеством sIgA.

Gu et al. сконструировали и испытали трехвалентный химерный (слитный) белок, состоящий из антигенных детерминант EspA, интимина и В-субъединицы шига-токсина Stx2 [6]. В опытах на мышах линии BALB/c было показано, что трехвалентный химерный антиген обладал лучшими иммуногенными и протективными свойствами, нежели отдельно взятые антигены или их бивалентные варианты. Сконструированная трехвалентная рекомбинантная вакцина при подкожной иммунизации животных индуцировала у них образование специфических антител против каждого целевого антигена – EspA, интимина и субъединицы Stx2B – и обеспечивала защиту мышей от перорального заражения их живыми клетками *E. coli* O157:H7 и ультразвуковыми лиза-

тами этого патогена, т.е. трехвалентный химерный антиген индуцировал у животных формирование как антибактериального (антиадгезивного), так и антитоксического адаптивного иммунитета.

Amani et al. сконструировали рекомбинантную трехвалентную вакцину на основе химерного белка, содержащего в своем составе иммуногенные детерминанты EspA, Tir и интимина [7]. После подкожной аппликации этой вакцины мышам BALB/c у них детектировали высокие титры строго специфических сывороточных IgG-антител к каждому из трех антигенов. Вакцинированные мыши были защищены от перорального заражения ЕНЕС-штаммом *E. coli* O157:H7, хотя секреторные IgA-антитела не были обнаружены ни в сыворотке крови, ни в фекалиях иммунизированных животных. По результатам исследования авторы работы сделали вывод, аналогичный тому, что ранее высказывали в своей работе Babiuk et al.: специфические мукозальные sIgA-антитела не абсолютно необходимы для профилактики мышей линии BALB/c от колонизации их ЕНЕС-штаммом *E. coli* O157:H7 [4]. Авторы, как и Babiuk et al., допускают, что антиколонизационный эффект вакцины в эксперименте обеспечивался специфическими сывороточными IgG-антителами, которые трансдуцировались через барьер слизистой оболочки кишечника и секретировались в просвет кишечной трубки, где и осуществляли свой антимикробный эффект.

В работах Yazdanparast et al. и Sedighian et al. были испытаны рекомбинантные бивалентные химерные антигены: интимин + Tir и EspA + интимин соответственно [8, 9]. Оба химерных антигена после подкожной иммунизации мышей линии BALB/c индуцировали у них образование высоких титров специфических сывороточных IgG-антител и защищали мышей от перорального заражения живыми клетками *E. coli* O157:H7: у вакцинированных животных концентрация патогена в фекалиях была намного ниже и выделение его заканчивалось в более короткие сроки, чем у контрольных (невакцинированных) мышей. В работе Yazdanparast et al. отмечается, что бивалентные химерные протеины по своей иммуногенности и протективности уступают трехвалентной вакцине (EspA + интимин + Tir), описанной в работе Amani et al. [7, 8].

Lin et al. изучили иммуногенные и протективные свойства бивалентного слитного белка EspA + Tir при интраназальной и подкожной иммунизации мышей линии BALB/c [10]. В опытах на животных было показано, что интраназальная иммунизация индуцирует у мышей как системный (IgG), так и мукозальный (sIgA) иммунный ответ. Мыши, иммунизированные интраназально, были лучше защищены от перорального заражения живой культурой *E. coli* O157:H7, чем мыши, иммунизированные подкожно. Авторы сделали заключение, что слитный белок EspA + Tir может рассматриваться как перспективная субъединичная вакцина в борьбе со STEC-инфекцией.

Rahjerdi et al. сконструировали четырехвалентный рекомбинантный химерный белок, состоящий из двух антигенных детерминант энтеротоксигенных *E. coli* – (ETEC)-адгезина CfaB и В-субъединицы термолабильного энтеротоксина (LT) и двух эпитопов ЕНЕС – интимина и В-субъединицы шига-токсина Stx2 [11]. Полученный химерный антиген при под-

кожной иммунизации мышей линии BALB/c индуцировал у них образование высоких титров специфических IgG-антител. В опытах *in vitro* на CHO- и HeLa-клетках было показано, что сыворотка иммунных мышей нейтрализовала токсическое действие как LT-, так и Stx2-токсинов. Иммунизированные четырехвалентным слитным антигеном мыши, в отличие от контрольных (неиммунизированных), выжили после интраперитонеального введения им смертельных доз LT- и Stx2-токсинов. Авторы заключили, что сконструированная ими химерная иммунодоминантная структура, включающая в себя антигенные эпитопы адгезинов и В-субъединиц LT и Stx2, способна защитить животных одновременно от энтеротоксигенных и энтерогеморрагических *E. coli* и может рассматриваться в качестве кандидатной бивалентной вакцины.

Li et al. исследовали иммуногенные и протективные свойства рекомбинантного протеина Раа, адгезина, впервые обнаруженного у энтеропатогенных *E. coli* (EPEC), выделенных от свиней [12]. Этот же антиген был детектирован и у штаммов ЕНЕС. При интраперитонеальной иммунизации мышей протеином Раа у них образовывались высокие титры специфических сывороточных антител класса IgG. Иммунизация мышей антигеном Раа была эффективнее, чем иммунизация мышей интиминем *E. coli* O157:H7: они были лучше защищены от колонизации и от гибели при пероральном заражении их смертельными дозами клеток *E. coli* O157:H7.

Иммуногенные и протективные свойства адгезина интимина и ведущих протеинов системы T3SS (EspA, EspB и Tir и других антигенов), помимо лабораторных животных, были изучены и в опытах на сельскохозяйственных животных: крупном рогатом скоте, свиньях, овцах и козах – основных естественных носителях шига-токсин-продуцирующих *E. coli* [13–15].

Так, в работах Potter et al. и Peterson et al. было показано, что внутримышечная или подкожная иммунизация бычков супернатантами, содержащими два (EspA и Tir) или четыре протеина (EspA, EspB, Tir и интимин), индуцировали у них образование высоких титров специфических IgG в сыворотке крови [16, 17]. Иммунные животные были лучше защищены от естественной колонизации ЕНЕС-штаммом *E. coli* O157:H7 по сравнению с контрольными (неиммунизированными) животными: они реже инфицировались, а в случае заражения их фекалии содержали значительно меньшее количество клеток *E. coli* O157:H7 по сравнению с невакцинированными животными.

McNelly et al. испытали на телятах иммуногенные и протективные свойства жгутикового антигена H7, одного из адгезинов ЕНЕС-штамма *E. coli* O157:H7 [18]. При внутримышечной аппликации препаратов флагеллина H7 у животных обнаруживали высокие титры анти-H7-специфических IgG- и sIgA-антител как в сыворотке крови, так и в назальных секретах; в незначительных количествах оба класса антител обнаруживали в ректальном содержимом. Иммунизация телят флагеллином H7 ректальным способом индуцировала у них образование sIgA-, но не IgG-антител. После перорального заражения у телят, иммунизированных внутримышечно, отмечали существенное снижение концентрации *E. coli* O157:H7 в фекалиях по сравнению с таковой у контрольных (неиммунизированных) животных. Ректальная иммунизация

телят флагеллином H7 оказалась неэффективной: она не снижала колонизационной активности патогена в кишечном тракте животных. В этом эксперименте было показано также, что добавление антигена H7 к вакцине, состоящей из комбинации рекомбинантных белков EspA, Tir и интимина, существенно увеличивало ее протективные свойства. При этом защитные свойства вакцины коррелировали с системным и мукозальным иммунным ответом на отдельные антигены, входящие в ее состав.

В аналогичных исследованиях Vilte et al. было продемонстрировано, что внутримышечная иммунизация телят двумя ключевыми колонизационными факторами ЕНЕС – интиминем-γ и EspB – индуцировала у животных образование высоких титров сывороточных IgG на оба антигена [19]. Секреторные мукозальные IgA-антитела в сыворотке крови иммунизированных телят не выявлялись, однако они в значительных количествах присутствовали в слюне этих животных. После экспериментального заражения телят культурой *E. coli* O157:H7 у иммунизированных животных отмечали значительное снижение концентрации выделяемого с фекалиями патогена по сравнению с таковой у контрольных (неиммунизированных) животных. Авторы делают заключение, что системная иммунизация крупного рогатого скота препаратами интимина и EspB может рассматриваться в качестве перспективной стратегии по снижению носительства и распространения во внешней среде основного возбудителя ГК и ГУС – ЕНЕС-серотипа O157:H7.

Хороший иммуногенный и протективный эффект был получен при внутримышечной иммунизации овец комбинированной вакциной, включавшей в свой состав рекомбинантные антигены ЕНЕС – протеины EspA, EspB и интимин: у вакцинированных животных после их перорального заражения клетками *E. coli* O157:H7 было отмечено значительное снижение количества выделяемого с фекалиями патогена по сравнению с контрольными овцами, получавшими вместо вакцины плацебо. Эта защита животных от колонизации штаммом *E. coli* O157:H7 коррелировала с антительным IgG-специфическим ответом животных на каждый антиген вакцины [20].

Zhang et al. сконструировали четырехвалентную вакцину – рекомбинантный слитный белок, состоящий из антигенных детерминант ЕНЕС – флагеллина H7, пилей геморрагических *E. coli* (HCP), протеинов Tir и интимина (H7-HCP-Tir-интимин), и испытали ее на козах [21]. При подкожной иммунизации животных вакцина индуцировала у них образование высоких титров специфических сывороточных IgG-антител; в фекалиях большинства иммунизированных коз детектировали мукозальные секреторные IgA-антитела. В эксперименте *in vitro* было показано, что сывороточные антитела против слитного белка H7HCPТirинтимин существенно снижали адгезию клеток *E. coli* O157:H7 к клеткам HEp-2. У вакцинированных животных уже на 5-й день после их перорального заражения клетками *E. coli* O157:H7 патоген в фекалиях не детектировали, в то время как у контрольных (невакцинированных) животных выделение патогена продолжалось в течение всего срока наблюдения (14 дней).

Весьма интересные результаты были получены Dean-Nystrom et al. при изучении роли пассивного специфического иммунитета в профилактике ЕНЕС-инфекции [22]. Авторы

показали, что внутримышечная двухразовая иммунизация супоросных свиноматок очищенным препаратом интимина вместе с адъювантом индуцировала у животных образование высоких титров специфических антител к интимину как в сыворотке крови (1:10 000), так и в молозиве (1:100 000). Новорожденные поросята, получавшие молозиво от вакцинированных матерей в течение 8 ч после рождения, оказались защищенными от перорального заражения их культурой ЕНЕС О157:H7; у поросят не было отмечено каких-либо патологических изменений в кишечном тракте. Поросята, родившиеся от невакцинированных свиноматок, оказались незащищенными от заражения их *E. coli* О157:H7: они заболели и погибали.

Представленные выше результаты научных исследований, полученные на лабораторных и сельскохозяйственных животных, свидетельствуют о возможности использования в качестве иммунодоминантных рекомбинантных антигенов белков III типа секреции ЕНЕС – EspA, EspB, Tir, а также интимина, флагеллина H7 и недавно идентифицированного поверхностного антигена Раа для конструирования субъединичных вакцин против ЕНЕС-инфекции. Препараты указанных антигенных детерминант или их слитные структуры (химерные белки), полученные генно-инженерными методами, будучи введенными животным парентерально (подкожно, внутримышечно, интраперитонеально) или интраназально, способны индуцировать у них системный и мукозальный иммунные ответы, обеспечивающие защиту макроорганизма от перорального заражения ЕНЕС-штаммами. Важно отметить, что даже в том случае, когда при парентеральной иммунизации у животных в содержимом кишечника не удается детектировать мукозальные секреторные антитела класса IgA, животные остаются защищенными в разной степени от перорального заражения их энтерогеморрагическими эшерихиями, возбудителями ГК и ГУС человека. Важно акцентировать внимание и на другом факте – колостральные (молозивные) антитела против интимина могут защитить новорожденных животных от перорального заражения их ЕНЕС-штаммами, т. е. пассивно приобретенный (через молозиво) иммунитет может быть таким же эффективным, как и адаптивный, индуцированный введением специфических антигенов.

Нельзя не отметить и факт возможного формирования местного интестинального мукозального иммунитета у мышей после скармливания им биомассы растительных клеток трансгенного табака, продуцирующих интимин (Int 261), или этой биомассы вместе с адъювантом [3].

Кандидатные субъединичные вакцины на основе иммуногенных детерминант шига-токсинов Stx1 и Stx2

Главным патогенетическим факторам STEC-штаммов, как это уже указывалось выше, являются продуцируемые ими шига-токсины Stx1 и Stx2, обладающие нефро-, цито-, энтеро- и нейротоксичностью. Поэтому вполне логичными являются исследования по разработке субъединичных вакцин, способных защитить человека от шига-токсинов *E. coli*. Особенно актуальны эти вакцины для защиты от STEC-штаммов, у которых отсутствуют характерные для патогруппы ЕНЕС антигены Т3SS, интимин и другие известные поверхностные антигены. К таким штаммам, например, относится высоковирулентный для человека гибридный штамм

E. coli О104:H4 [23]. Поэтому специфическая профилактика инфекции, вызываемой не-ЕНЕС-шига-токсин-продуцирующими штаммами у людей, в настоящее время возможна лишь с помощью антитоксических вакцин или лечебных моноклональных антител.

Ниже мы представляем краткий анализ исследований по разработке антитоксических субъединичных рекомбинантных вакцин на основе иммуногенных детерминант белков А- и В-субъединиц шига-токсинов Stx1 и Stx2.

В 1992 г. Gordon et al. опубликовали работу по исследованию иммуногенных свойств препарата генетически модифицированного (нетоксичного) шига-токсина Stx2e, нативный аналог которого является основным патогенетическим специфичным фактором отечной болезни свиней [24, 25]. Авторы показали, что иммунизация свиней «генетическим» токсидом Stx2e индуцировала у животных образование специфических токсиннейтрализующих антител. В 1996 г. эти же исследователи изучили протективные свойства полученного токсоида Stx2e в эксперименте на большой группе поросят [26]. Животных в возрасте 1–2 нед. вакцинировали подкожно дважды в дозе 50 мкг токсоида вместе с адъювантом оксида алюминия (Al(OH)₃). После отъема в возрасте трех месяцев вакцинированные поросята были заражены перорально штаммом *E. coli*, продуцентом шига-токсина Stx2e, в дозе 1×10^{10} КОЕ. Вакцинированные животные оказались защищенными от развития отечной болезни, в то время как контрольные (невакцинированные) поросята заболели и погибали. Таким образом, были получены доказательства возможности использования токсоида Stx2e, полученного генетическими методами, в качестве вакцинного препарата для профилактики свиней от отечной болезни, вызываемой штаммами *E. coli*, продуцирующими шига-токсин типа Stx2e.

Ishikawa et al. с помощью сайт-специфического мутагеназа гена А-субъединицы Stx1 получили нетоксичный для Vero-клеток и мышей препарат шига-токсина Stx1 [27]. Трехкратная подкожная иммунизация мышей токсидом в дозе 60 мкг вместе с полным адъювантом Фрейнда индуцировала у мышей образование антител, которые *in vitro* нейтрализовали токсическую активность нативного шига-токсина Stx1. Иммунизированные токсидом Stx1 животные оказались защищенными от 100 LD₅₀ нативного шигатоксина Stx1. Все контрольные (невакцинированные) мыши от этой дозы погибли. Авторы работы рассматривают полученный ими препарат токсоида в качестве хорошего кандидатного антигенного компонента при создании антитоксической вакцины против Stx1-продуцирующих штаммов *E. coli*.

Marcato et al. провели исследование иммуногенных и протективных свойств протеина субъединицы В шига-токсина Stx2 в опытах *in vitro* и *in vivo* [28]. Мышей иммунизировали трехкратно подкожно, используя для этого либо только рекомбинантный протеин Stx2B (в дозе 30 мкг), либо конъюгат Stx2B с белком KHL (keyhole limpet hemocyanin) вместе с пятью различными адъювантами. Было показано, что сам по себе протеин субъединицы Stx2B обладает слабой иммуногенностью, в то время как конъюгат Stx2B + KHL индуцировал у мышей образование специфических антитоксических антител и частично (в 10% случаев) защищал вакцинированных животных от летальной дозы голотоксина Stx2. В то же время добавление к конъюгату Stx2B + KHL адъювантов Ribi

(Synthetic trehalose dicorynomycolate), содержащего синтетическую трегалозу дикориномиколат, или 2%-го гидрогеля алюминия существенно повышали его протективные свойства. При использовании адъюванта Ribi вакцинированные мыши выживали в 100% случаев, а при использовании адъюванта 2%-го гидрогеля алюминия сыворотки от иммунизированных животных обладали нейтрализующей Stx2 активностью и в 80% случаев защищали Ramos Вклетки от шигатоксина. Авторы считают, что предложенный ими конъюгат субъединицы Stx2B с белком KHL может быть использован для изготовления вакцины для защиты человека от ЕНЕС-инфекции.

Wen et al., используя генетические методы, сконструировали рекомбинантные протеины субъединиц Stx1A и Stx2A, нетоксичные для Vero-клеток и для мышей линии BALB/c [29]. Полученными токсоидами дважды вакцинировали мышей внутрибрюшинно в дозе 1 мкг вместе с водно-масляным адъювантом Titr Max Gold. После иммунизации животных заражали интраперитонеально нативными шигатоксинами Stx1 и Stx2. Было показано, что образующиеся против токсидов Stx1A и Stx2A антитела не обеспечивали перекрестной нейтрализации токсинов: мыши, вакцинированные токсидом Stx1A, были защищены только от гомологичного Stx1 голотоксина, но не против шига-токсина Stx2, и наоборот, мыши, иммунизированные токсидом Stx2A, были защищены от гомологичного шига-токсина и не защищены от шига-токсина Stx1. Мыши, иммунизированные смесью токсидов Stx1A и Stx2A, были защищены от смертельных доз обоих токсинов. Полученные в работе данные весьма важны, их необходимо учитывать при разработке антитоксической субъединичной вакцины против STEC-инфекции.

С целью создания вакцины, способной нейтрализовать одновременно оба токсина – Stx1 и Stx2, Smith et al. сконструировали генетическую структуру (оперон), состоящую из мутантного гена stx2A и нативного гена stx1B, которая кодировала синтез нетоксичного для Vero-клеток и мышей BALB/c химерного слитного токсоида Stx2A/Stx1B [30]. Полученный химерный белок при внутрибрюшинной вакцинации мышей в дозе 4,3 мкг вместе с водно-масляным адъювантом Titr Max Gold индуцировал у животных образование высоких титров сывороточных IgG, способных нейтрализовать *in vitro* голотоксины Stx1 и Stx2. Иммунизированные Stx2A/Stx1B-токсидом мыши при внутрибрюшинном заражении их 10 LD₅₀ каждого в отдельности голотоксина (Stx1 или Stx2) в 100% случаев оставались живыми. При заражении вакцинированных мышей одновременно обоими токсинами в живых осталось 90% опытных животных. У погибших 10% мышей в сыворотке крови отсутствовали нейтрализующие антитела. Авторы работы полагают, что полученный ими химерный Stx2A/Stx1B-токсид является эффективной кандидатной антитоксической вакциной для защиты животных и человека от широкого спектра шигатоксинов, продуцируемых STEC-штаммами.

Для стимулирования иммуногенных свойств протеина B-субъединицы Stx2, которые, как уже отмечалось, весьма низкие, Tsuji et al. получили меченый гистидином протеин Stx2B – Stx2B-His и мутантный термолабильный энтеротоксин *E. coli* (mLT) с инактивированной субъединицей A, используя его в качестве адъюванта [31]. Авторы эксперимен-

тально показали, что у мышей, интраназально иммунизированных только препаратом Stx2B-His, специфические антитела не обнаруживаются. Однако после трехкратной интраназальной вакцинации препаратом Stx2B-His + mLT в сыворотке крови животных детектировали высокие титры специфических анти-Stx2B-IgG-антител, а в лаваже легких – присутствие специфических секреторных IgA. Сыворотки иммунных мышей нейтрализовали голотоксин Stx2 и защищали клетки HeLa от токсического действия этого токсина. Вакцинированные интраназально мыши после внутрибрюшинного заражения их смертельной дозой голотоксина Stx2 более чем в 50% случаев остались живыми. Эффективной была также и подкожная иммунизация животных препаратом Stx2B-His + mLT, однако пероральная иммунизация мышей даже высокими дозами Stx2B-His + mLT практически не индуцировала у животных иммунный ответ. Авторы заключают, что протеин Stx2B-His при интраназальной иммунизации вместе с мутантным нетоксичным LT-токсином могут быть использованы в качестве мукозальной вакцины для профилактики токсемии, вызываемой шигатоксинами *E. coli*.

Об успешном испытании иммуногенных и протективных свойств антитоксической вакцины, полученной из протеина EspA и мутантного (нетоксического) протеина Stx2A1, сообщили Cheng et al. [32]. Авторами было показано, что трехкратная подкожная вакцинация мышей BALB/c химерным белком EspA-Stx2A1 в дозе 100 мкг вместе с полным адъювантом Фрейнда индуцировала у животных образование высоких титров специфических сывороточных IgG против слитного белка EspAStx2A1. Сыворотка вакцинированных мышей в экспериментах на клетках линии HeLa проявляла нейтрализующую Stx2 активность и защищала клетки от гибели. Химерная вакцина обладала и протективными свойствами: после внутрибрюшинного заражения вакцинированных мышей смертельной дозой грубо очищенного токсина Stx2 19 из 20 опытных животных остались живыми. Авторы работы предлагают использовать полученный ими химерный белок EspAStx2A1 для конструирования антитоксической вакцины против STEC-штаммов.

Mohawk et al. методами генетической инженерии сконструировали токсид Stx2, меченый гистидином (Stx2-6H), с полностью инактивированной токсичностью [33]. После пятикратной внутрибрюшинной иммунизации мышей токсидом (суммарная доза 200 мкг) совместно с адъювантом Titr Max Gold у всех животных в сыворотке крови обнаруживали высокие титры специфических антиStx2-IgG-антител. В гомогенатах фекалий иммунизированных мышей уровень IgG и sIgA был низким, антитела обнаруживали только у отдельных животных. Интрагастральное введение токсоида мышам не увеличивало количество IgG и IgA в их фекалиях. Тем не менее гомогенаты фекалий 5- и 6-кратно вакцинированных мышей способны были инактивировать цитотоксичность Stx2 в эксперименте на Vero-клетках, что указывает на наличие в фекалиях нейтрализующих антител. При пероральном заражении клетками *E. coli* O157:H7 мышей, в фекалиях которых были обнаружены нейтрализующие Stx2 антитела, элиминация клеток патогена происходила гораздо быстрее, нежели у контрольных (неиммунизированных) мышей. По мнению авторов, полученные ими результаты свидетель-

ствуют о целесообразности разработки токсидной вакцины, поскольку такая вакцина способна защитить человека от системной интоксикации шига-токсином, от развития ГК и ГУС, а также будет способствовать уменьшению концентрации патогена в желудочно-кишечном тракте (антиколонизационный эффект вакцины) заболевшего, что, в свою очередь, снизит риски распространения патогена среди людей.

Cai et al. исследовали иммуногенные и протективные свойства двух химерных слитных белков: ранее сконструированного ими белка Stx2B-Stx1B(2S) и вновь полученного белка Stx2Am-Stx1B (SAmB), в котором протеин А-субъединицы был лишен энзиматической активности [34]. Мышей BALB/c вакцинировали химерными белками внутрибрюшинно дважды вместе с адъювантом Фрейнда. Оба химерных белка, SAmB и 2S, индуцировали у мышей образование высоких титров специфических сывороточных IgG-антител против Stx1 и Stx2, однако титры антител, индуцируемые у мышей химерным антигеном SAmB, были достоверно выше, чем у мышей, вакцинированных антигеном 2S. Оба слитных протеина индуцировали также образование специфических сывороточных sIgA, однако титры их были намного ниже, чем титры IgG. Сыворотки мышей, вакцинированных SAmB и 2S, защищали Vero-клетки от токсического действия шига-токсинов. Тем не менее нейтрализующая активность сыворотки против шига-токсина Stx2 у мышей, иммунизированных белком SAmB, была существенно выше, чем у мышей, вакцинированных белком 2S. Мыши, иммунизированные антигеном SAmB, намного лучше были защищены от лизата *E. coli* O157:H7, содержащего шига-токсина Stx1 и Stx2, чем мыши, иммунизированные белком 2S. При внутрибрюшинном заражении мышей 10 LD₅₀ лизата в первом случае выжило 93,3% опытных животных, во втором – только 26,7%. Мыши, иммунизированные SAmB, были защищены в 100; 93,3 и 80% случаев при заражении их 10 LD₅₀ токсинов Stx1, Stx2 и Stx1/Stx2 соответственно. Авторы работы считают, что антигенные детерминанты двух субъединиц шига-токсинов Stx1B и Stx2A, совмещенные в одном слитном белке, способны индуцировать высокие титры нейтрализующих антител и обеспечивать эффективную защиту от токсического действия шигатоксинов *E. coli*. Авторы полагают, что сконструированный ими химерный белок Stx2Am-Stx1B является хорошей кандидатной вакциной против STEC-инфекции.

Gao et al. сконструировали и испытали на мышах BALB/c иммуногенные и протективные свойства слитного белка с эпитопами трех антигенов: Stx1B, Stx2B и интимина (SSI) [35]. Иммунизация мышей препаратом SSI внутрибрюшинно дважды или трижды в дозах 25 и 50 мкг соответственно, с полным и неполным адъювантом Фрейнда, индуцировала у животных образование специфических IgG (в основном IgG1) антител против Stx1, Stx2 и интимина. В сыворотке крови обнаруживали и повышенные количества Th2-зависимых интерлейкинов – IL4 и IL10; INF- γ у иммунизированных мышей не детектировался. Сыворотки иммунизированных химерным SSI-белком мышей нейтрализовали *in vitro* шига-токсина Stx1 и Stx2 и защищали от гибели клетки HeLa. Нейтрализующий титр анти-Stx2-антител в сыворотках крови иммунных животных был существенно выше титров анти-Stx1-антител. Иммунные сыворотки животных об-

ладали также и антиадгезивными свойствами: они на 83,3% ингибировали адгезию клеток *E. coli* O157:H7 к эпителиальным клеткам человека Hep-2. При изучении протективных свойств химерного белка было показано, что трижды иммунизированные мыши, зараженные перорально десятью летальными дозами живых клеток *E. coli* O157:H7, в 100% случаях остались живыми. Дважды вакцинированные мыши после их перорального заражения 50 и 100 летальными дозами патогена остались живыми в 70 и 20% случаев соответственно. Таким образом, химерный протеин SSI индуцировал у мышей не только антитоксический, но и антиадгезивный иммунные ответы. Авторы считают, что сконструированный ими химерный протеин SSI, содержащий эпитопы Stx1, Stx2 и интимин, может быть применен в качестве эффективной кандидатной вакцины против EHEC-инфекции.

Zhang et al. сконструировали слитный белок из четырех компонентов: трех иммунодоминантных детерминант EHEC – Stx2B, Tir и Stx1B (Stx2B-Tir-Stx1B) – и протеина Zot (zonula occludens toxin), представленного одноцепочечной полипептидной цепью, кодируемой генами филаментозного фага CTX ϕ *Vibrio cholerae* [36]. Подкожная или интраназальная вакцинация мышей линии BALB/c химерным белком Stx2B-Tir-Stx1B-Zot вызывала у животных образование высоких титров специфических сывороточных IgG-антител против Stx2, Tir и Stx1-антигенов, но сравнительно низкие титры специфических мукозальных sIgA обнаруживали в фекалиях большинства опытных мышей. Следует заметить, что у отдельных животных эти титры были высокими. После интраназальной иммунизации у животных детектировали низкие титры антител IgG к белку Zot. После перорального заражения клетками *E. coli* O157:H7 мышей, иммунизированных химерным белком Stx2B-Tir-Stx1B-Zot, у них отмечали резкое снижение количества выделяемых с фекалиями клеток патогена по сравнению с мышами, вакцинированными только протеином Stx2B-Tir-Stx1B (без Zot), что свидетельствует о высокой адъювантной, в том числе мукозальной, активности белка Zot. Таким образом, четырехкомпонентный химерный белок Stx2B-Tir-Stx1B-Zot по своим иммуногенным и протективным свойствам является хорошей кандидатной вакциной для защиты от EHEC-инфекции.

Аргентинские исследователи для получения антитоксической вакцины, способной защитить человека от шигатоксина Stx2, основного этиологического фактора ГК и ГУС, сконструировали слитный белок из протеина субъединицы Stx2B и пентамерного белка лумазил синтетазы *Brucella* spp. (BLS) [37]. Благодаря своей структуре пентамер BLS обладает высокой стабильностью и большой пластичностью при взаимодействии с чужеродными антигенами. Химерный протеин BLS-Stx2B при трехкратной внутрибрюшинной или подкожной иммунизации вместе с полным и неполным адъювантами Фрейнда или гидроксидом алюминия (Al(OH)₃) индуцировал у мышей BALB/c образование специфических IgG-антител, обладающих высокой нейтрализующей активностью против Stx2 и его вариантов – Stx2c и Stx2d; иммунные сыворотки, введенные парентерально интактным мышам, защищали их от внутривенного введения смертельных доз шига-токсина Stx2. Вакцинированные химерным белком BLS-Stx2B мыши также были защищены от смертельных доз шига-токсина Stx2.

В другой работе этих же авторов была исследована возможность передачи нейтрализующих шига-токсин Stx2-антител от мышей-матерей, иммунизированных слитным белком BLS-Stx2B, новорожденным мышатам [38]. Было установлено, что у родившихся мышат, употреблявших молоко иммунных матерей, в сыворотке крови присутствовали специфические антитела против шига-токсина Stx2 в титрах, сравнимых с титрами антител в крови матерей. Иммунные мышата в 100% случаев были защищены от заражения их летальными дозами токсина Stx2 на протяжении длительного времени (2–3 мес.). Более того, иммунные мышата были резистентными и к пероральному заражению живыми клетками штамма *E. coli* O157:H7. Представленные выше результаты демонстрируют высокий протективный антитоксический потенциал слитного белка BLSStx2B. Этот иммунодоминантный слитный белок может быть использован, по мнению авторов, для создания субъединичной вакцины против ГУС, а также для получения лечебных нейтрализующих шигатоксин Stx2-антител.

Иранские исследователи для профилактики диарей, вызываемых у человека эшерихиями патотипов ETEC и EHEC, а также *Vibrio cholera*, предложили химерный трехвалентный протеин rLSC, состоящей из эпитопов протеинов В-субъединиц термолabileного энтеротоксина ETEC (LT), шига-токсина Stx2 EHEC и холерного токсина (CT) [39]. Генетическая структура, кодирующая синтез химерного белка rLSC, была получена из химически синтезированных генов *ltB*, *stx2B* и *ctxB*. Трехкратная подкожная иммунизация мышей BALB/c химерным антигеном rLSC вместе с полным и неполным адьювантом Фрейнда индуцировала у животных образование специфических антител против токсинов LT, Stx2 и CT. Сыворотки иммунных мышей в опытах на культурах клеток CHO и HeLa защищали их от токсического действия всех трех токсинов; они также блокировали связь токсинов LT и CT с рецептором энтероцитов моносиалоганглиозидом GM1. Следовательно, сконструированный химерный белок rLSC, по мнению авторов работы, может быть использован как иммуногенный компонент при разработке вакцин против диарей, вызываемых ETEC, EHEC и *V. cholerae*.

Интересные результаты были получены в 2018 г. Schmidt et al. при изучении влияния пассивно приобретенного иммунитета (через молозиво) и активно приобретенного иммунитета (при иммунизации телят рекомбинантным токсидом Stx1/Stx2) на носительство животными STEC-штаммов [40]. Авторы в экспериментах на новорожденных животных показали, что у телят, получавших молозиво от вакцинированных токсидом коров, титры специфических антител против Stx1 и Stx2 в сыворотке крови были существенно выше, чем у телят, родившихся от невакцинированных матерей. Сыворотка иммунных телят *in vitro* нейтрализовала шигатоксины Stx1 и Stx2 и защищала Vero-клетки от гибели при воздействии на них шига-токсинов. Активная иммунизация телят токсидом Stx1/Stx2 также индуцировала у животных специфический гуморальный ответ: их сыворотки нейтрализовали токсическое действие шига-токсинов.

Длительное наблюдение за вакцинированными телятами позволило установить, что гены *stx1* и *stx2* выявляются в фекалиях таких животных значительно реже, нежели у не-

вакцинированных животных. Авторы работы делают вывод, что вакцинация токсидом Stx1/Stx2 не только индуцирует у животных образование шига-токсин-нейтрализующих антител, но и снижает колонизационную активность STEC-штаммов, уменьшая тем самым риски распространения патогенов во внешней среде.

Lu et al. для профилактики STEC-инфекции предложили использовать антигенный конъюгат, состоящий из синтетического наномера поли-N-ацетилглюкозамина (PNAG, 9GlcNH₂) и В-субъединицы шига-токсина Stx1 (9GlcNH₂-Stx1B) [41]. PNAG – это поверхностный полисахарид, который встречается у широкого круга патогенных бактерий, включая клинические штаммы STEC различных серогрупп, и рассматривается в качестве протективного антигена для создания мультитиповых вакцин. В проведенных экспериментах авторы показали, что сыворотка кроликов, иммунизированных конъюгатом 9GlcNH₂-Stx1B в опытах *in vitro* обладала опсонизирующей киллинговой активностью, бактерицидным и токсиннейтрализующим действием. Она эффективно нейтрализовала шига-токсин Stx1 и умеренно – шига-токсин Stx2. Антитела против конъюгата 9GlcNH₂-Stx1B эффективно защищали новорожденных мышат от заражения их STEC-штаммами *E. coli* O157:H7. Здесь же следует отметить полученный в работе примечательный факт: сыворотка кроликов, содержащая антитела только против полисахарида 9GlcNH₂, также защищала мышей от заражения их клетками штамма *E. coli* O104:H4, не относящегося, как известно, к патогруппе EHEC. Авторы работы считают, что конъюгат 9GlcNH₂-Stx1B может использоваться для профилактики STEC-инфекции, вызванной разными серогруппами *E. coli*.

Представленный выше анализ работ по созданию антитоксических кандидатных субъединичных вакцин против шига-токсинов STEC-штаммов позволяет высказать следующие суждения:

На основании иммуногенных детерминант (эпитопов) протеинов нативных В-субъединиц и генетически модифицированных (нетоксичных) протеинов А-субъединиц шига-токсинов Stx1 и Stx2 можно конструировать кандидатные субъединичные вакцины, способные защитить макроорганизм от системной интоксикации шига-токсинами STEC-штаммов, независимо от их серогрупповой принадлежности, а также снизить колонизационную активность (адгезию и размножение) патогена в кишечном тракте лабораторных и сельскохозяйственных животных. Есть все основания полагать, что такие вакцины будут эффективны и для человека.

Положительный протективный эффект от иммуногенных детерминант протеинов А- и В-субъединиц шига-токсинов в силу их слабой иммуногенности можно достичь лишь в том случае, если указанные эпитопы представлены в вакцине либо в виде конъюгата с другим нецелевым белком, либо в составе слитного (химерного) антигена, также содержащего нецелевой белок, способный существенно усилить иммуногенные свойства А- и В-субъединиц.

Иммуногенные и протективные свойства специфических эпитопов А- и В-субъединиц, находящихся в составе конъюгатов или слитных белков, существенно усиливаются под влиянием минеральных и других адьювантных субстанций: гидроокиси алюминия, водно-масляных эмульсий, адьювантов Фрейнда и др.

Эффективными способами доставки иммуногенных детерминант субъединиц А и В в составе субъединичной вакцины для лабораторных и сельскохозяйственных животных являются их подкожная, интраназальная и внутримышечная аппликация; пероральная доставка субъединичной антитоксической вакцины не защищает лабораторных животных от шига-токсинов *E. coli*.

Кандидатные субъединичные антитоксические вакцины в экспериментах на лабораторных и сельскохозяйственных животных способны были индуцировать не только активный (через вакцинацию), но и пассивный (через молозиво иммунных матерей) адаптивный иммунитет. Этот весьма важный факт следует учитывать при разработке вакцин для профилактики ГУС у детей первых лет жизни.

Иммуногенные детерминанты А- и В-субъединиц шига-токсинов, находясь в составе сложных химерных антигенов вместе с эпитопами основных факторов адгезии – интимин, протеинами EspA, EspB, и Tir, не конкурируют с ними и не теряют своих специфических иммуногенных и протективных свойств, т.е. А- и В-субъединицы могут использоваться для создания субъединичных вакцин, обеспечивающих макроорганизму одновременно антимикробную (антиколониционную) и антитоксическую защиту.

Заключение

Пищевая инфекция, вызываемая STEC-патогенами, широко распространена во многих странах мира, в некоторых регионах она приобрела эндемичный (природно-очаговый) характер [42]. В Российской Федерации болезнь также регистрируется, однако точные данные о ее распространении отсутствуют. Смертность от тяжелых форм STEC-инфекции, ГК и ГУС, может достигать 5–15 % [43]. Лечение болезни в основном симптоматическое, применение этиотропных антибактериальных средств противопоказано. Официально зарегистрированных вакцинных препаратов против STEC-инфекции человека в мировой практике нет. Актуальность разработки специфических вакцин против STEC-инфекции очевидна.

В первой и второй частях нашего обзора изложены основные методические подходы, используемые исследователями в настоящее время для получения кандидатных вакцин против STEC-инфекции, и проанализирована эффективность иммуногенных и протективных свойств разработанных в последние 20 лет различных типов вакцин, включая корпускулярные инактивированные, живые векторные, вакцины, приготовленные на основе клеточных оболочек (тений), липополисахаридов, ДНК- и нановакцины, а также субъединичные вакцины; рассмотрены работы по конструированию вакцин против STEC-патогенов с использованием методов обратной вакцинологии.

Проведенный анализ представленных в обзоре экспериментальных работ, осуществленных на животных моделях, показывает, что успешная защита лабораторных и сельскохозяйственных животных от STEC-инфекции достигается применением различных перечисленных выше типов вакцин. Тем не менее, по нашему мнению, субъединичные рекомбинантные вакцины являются наиболее перспективными по степени изученности, безопасности, эффективности, технологической доступности, возможности создания различ-

ных по составу рецептур. Состав иммуногенных детерминант таких вакцин может быть оперативно изменен в зависимости от типа и назначения разрабатываемого препарата, от эпидемической ситуации и от ожидаемого иммунного ответа на его применение: формирование антитоксического или антибактериального иммунного ответа.

В решении проблемы специфической профилактики STEC-инфекции среди населения наиболее актуальной задачей на сегодняшний день представляется разработка субъединичной вакцины, способной защитить человека от системной интоксикации, возникающей при тяжелых формах STEC-инфекции – ГК и, особенно, ГУС. Получение антитоксической вакцины обеспечит защиту человека от любого эпидемического STEC-штамма любой серологической группы. Это очень важное преимущество антитоксической вакцины, поскольку сейчас уже насчитывается свыше 100 серогрупп *E. coli*, способных продуцировать шига-токсины и вызывать спорадические случаи ГК и ГУС. Создать антибактериальную антиколониционную вакцину против такого количества STEC-серогрупп на основе известных антигенов адгезии не представляется возможным; сконструировать такие вакцины возможно только против небольшой группы эпидемически важных ЕНЕС-штаммов, у которых известны антигены.

Разработка эффективной антитоксической субъединичной вакцины, как следует из материалов обзора, вполне выполнимая задача. На основе эпитопов А- и В-субъединиц шига-токсинов могут быть созданы различные по сложности протективные антигены, способные индуцировать в макроорганизме антитоксический иммунитет. При этом очень важно при создании слитных (химерных) антигенов, содержащих А- и В-субъединицы шига-токсинов, которые, как известно, обладают слабой иммуногенностью, подобрать нецелевой белок – стимулятор специфического ответа макроорганизма. Важно также выбрать подходящий для приготовления вакцин минеральный адъювант. В случае успешного создания эффективной антитоксической вакцины иммунные к шига-токсинам пациенты смогут подвергаться лечению этиотропными препаратами с целью подавления колонизационной активности патогена и снижения рисков его распространения среди населения. Эффективность антитоксической субъединичной вакцины против STEC-инфекции может быть усилена за счет дополнительного введения в ее состав эпитопов нетоксичных липополисахаридов ведущих возбудителей ГК и ГУС – *E. coli* серогрупп O157, O26, O111, O113, O55, O145 и других, с учетом региональной эпидемиологической ситуации. Как известно, шига-токсины *E. coli* только вместе с липополисахаридами патогенов способны воспроизвести у лабораторных животных симптомы ГУС, сходные с таковыми у человека. Антитела против липополисахаридов играют важную роль в защите макроорганизма от интоксикации эндотоксинами патогена и от бактериемии и септицемии.

Заслуживают внимания, на наш взгляд, и исследования по разработке пероральных вакцин против STEC-инфекции. Такие вакцины, по всей вероятности, могут быть созданы на основе технологий нановакцин и живых векторных вакцин. Перспективными могут быть и исследования по конструированию методами геной инженерии и генетического редак-

тирования геномов штаммов STEC (EHEC), безопасных для человека. Они могут быть получены за счет инактивации у возбудителей ГК и ГУС функциональной активности А-субъединиц шига-токсинов Stx1 и Stx2 и факторов, обуславливающих А/Е-эффект ЕНЕС-штаммов, но сохранивших (или увеличивших) свои адгезивные свойства. Такие аттенуированные штаммы можно будет применять как специфические пробиотики, способные защитить человека от STEC(ЕНЕС)-инфекции.

Все изложенные выше материалы дают основание надеяться на создание в ближайшие годы специфических вакцинных препаратов для борьбы со STEC-инфекцией человека.

Информация о финансировании

Исследование выполнено в рамках гранта Минобрнауки России (Соглашение №075-15-2019-1671 от 31.10.2019).

Financial support

The study was carried out within the framework of a grant from the Ministry of Education and Science of Russia (Agreement No 075-15-2019-1671 of October 31, 2019).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Светоч ЭА, Дятлов ИА, Карцев НН, Ерусланов БВ, Канашенко МЕ, Фурсова НК. Разработка кандидатных вакцин против инфекции, вызванной шига-токсино продуцирующими *Escherichia coli*. Часть 1. Бактериология. 2020;5(2):56-70. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-2-56-70
- Gansheroff LJ, Wachtel MR, O'Brien AD. Decreased adherence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* to HEp-2 cells in the presence of antibodies that recognize the C-terminal region of intimin. *Infect Immun*. 1999;67(12):6409-6417.
- Judge NA, Mason HS, O'Brien AD. Plant cell-based intimin vaccine given orally to mice primed with intimin reduces time of *Escherichia coli* O157:H7 shedding in feces. *Infect Immun*. 2004;72(1):168-175. DOI: 10.1128/iai.72.1.168-175.2004
- Babiuk S, Asper DJ, Rogan D, Mutwiri GK, Potter AA. Subcutaneous and intranasal immunization with type III secreted proteins can prevent colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Microb Pathog*. 2008;45(1):7-11. DOI: 10.1016/j.micpath.2008.01.005
- Cataldi A, Yevsa T, Vilte DA, Schulze K, Castro-Parodi M, Larzábal M, et al. Efficient immune responses against Intimin and EspB of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* after intranasal vaccination using the TLR2/6 agonist MALP-2 as adjuvant. *Vaccine*. 2008;26(44):5662-5667. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.07.027
- Gu J, Liu Y, Yu S, Wang H, Wang Q, Yi Y, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* trivalent recombinant vaccine containing EspA, intimin and Stx2 induces strong humoral immune response and confers protection in mice. *Microbes Infect*. 2009;11(10-11):835-841. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.04.024
- Amani J, Salmanian AH, Rafati S, Mousavi SL. Immunogenic properties of chimeric protein from espA, eae and tir genes of *Escherichia coli* O157:H7. *Vaccine*. 2010;28(42):6923-6929. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.07.061
- Yazdanparast A, Mousavi SL, Rasooli I, Amani J, Jalalinadoushan M. Immunogenical study of chimeric recombinant intimin-Tir of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2012;7(2):45-51.
- Rad HS, Mousavi SL, Rasooli I, Amani J, Nadooshan MR. EspA-Intimin chimeric protein, a candidate vaccine against *Escherichia coli* O157:H7. *Iran J Microbiol*. 2013;5(3):244-51.
- Lin R, Zhu B, Zhang Y, Bai Y, Zhi F, Long B, et al. Intranasal immunization with novel EspA-Tir-M fusion protein induces protective immunity against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 challenge in mice. *Microb Pathog*. 2017;105:19-24. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.062
- Karimi Rahjerdi A, Jafari M, Motamedi MJ, Amani J, Salmanian AH. Immunogenic Evaluation of Bivalent Vaccine Candidate against Enterohemorrhagic and Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Iran J Immunol*. 2019;16(3):200-211.
- Li T, Han R, Wang Q, Wang S, Fang H, Li Z, et al. Immunogenicity of recombinant porcine attaching and effacing-associated protein compared with intimin fragment in *Escherichia coli* O157:H7-infected mice. *Foodborne Pathog Dis*. 2013;10(12):1016-1022. DOI: 10.1089/fpd.2013.1496
- Степаншин ЮГ, Светоч ЭА, Ерусланов БВ, Баннов ВА, Борзенков ВН, Каврук ЛС. Бактерионосительство энтерогеморрагических эшерихий серовара O157:H7 у животных. *Ветеринария*. 2005;7:17-21.
- Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW 4th. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Adv Appl Microbiol*. 2014;86:145-197. DOI: 10.1016/B978-0-12-800262-9.00003-2
- Gonzalez AGM, Cerqueira AMF. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the animal reservoir and food in Brazil. *J Appl Microbiol*. 2020;128(6):1568-1582. DOI: 10.1111/jam.14500
- Potter AA, Klashinsky S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, et al. Decreased shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine*. 2004;22(3-4):362-369. DOI: 10.1016/j.vaccine.2003.08.007
- Peterson RE, Klopfenstein TJ, Moxley RA, Erickson GE, Hinkley S, Rogan D, Smith DR. Efficacy of dose regimen and observation of herd immunity from a vaccine against *Escherichia coli* O157:H7 for feedlot cattle. *J Food Prot*. 2007;70(11):2561-2567. DOI: 10.4315/0362-028x-70.11.2561
- McNeilly TN, Naylor SW, Mahajan A, Mitchell MC, McAteer S, Deane D, et al. *Escherichia coli* O157:H7 colonization in cattle following systemic and mucosal immunization with purified H7 flagellin. *Infect Immun*. 2008;76(6):2594-2602. DOI: 10.1128/IAI.01452-07
- Vilte DA, Larzábal M, Garbaccio S, Gammella M, Rabinovitz BC, Elizondo AM, et al. Reduced faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle following systemic vaccination with γ -intimin C₂₈₀ and EspB proteins. *Vaccine*. 2011;29(23):3962-3968. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.03.079
- Yekta MA, Goddeeris BM, Vanrompuy D, Cox E. Immunization of sheep with a combination of intimin, EspA and EspB decreases *Escherichia coli* O157:H7 shedding. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011;140(1-2):42-46. DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.11.010
- Zhang X, Yu Z, Zhang S, He K. Immunization with H7-HCP-tir-intimin significantly reduces colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in goats. *PLoS One*. 2014;9(3):e91632. DOI: 10.1371/journal.pone.0091632
- Dean-Nystrom EA, Gansheroff LJ, Mills M, Moon HW, O'Brien AD. Vaccination of pregnant dams with intimin(O157) protects suckling piglets from *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Infect Immun*. 2002;70(5):2414-2418. DOI: 10.1128/iai.70.5.2414-2418.2002
- Soon JM, Seaman P, Baines RN. *Escherichia coli* O104:H4 outbreak from sprouted seeds. *Int J Hyg Environ Health*. 2013;216(3):346-354. DOI: 10.1016/j.ijheh.2012.07.005
- Gordon VM, Whipp SC, Moon HW, O'Brien AD, Samuel JE. An enzymatic mutant of Shiga-like toxin II variant is a vaccine candidate for edema disease of swine. *Infect Immun*. 1992;60(2):485-490.
- Dobrescu L. New biological effect of edema disease principle (*Escherichia coli*-neurotoxin) and its use as an *in vitro* for this toxin. *Am J Vet Res*. 1983;44(1):31-34.
- Bosworth BT, Samuel JE, Moon HW, O'Brien AD, Gordon VM, Whipp SC. Vaccination with genetically modified Shiga-like toxin IIe prevents edema disease in swine. *Infect Immun*. 1996;64(1):55-60.

27. Ishikawa S, Kawahara K, Kagami Y, Isshiki Y, Kaneko A, Matsui H, et al. Protection against Shiga toxin 1 challenge by immunization of mice with purified mutant Shiga toxin 1. *Infect Immun*. 2003;71(6):3235-3239. DOI: 10.1128/iai.71.6.3235-3239.2003
28. Marcato P, Griener TP, Mulvey GL, Armstrong GD. Recombinant Shiga toxin B-subunit-keyhole limpet hemocyanin conjugate vaccine protects mice from Shigatoxemia. *Infect Immun*. 2005;73(10):6523-6529. DOI: 10.1128/IAI.73.10.6523-6529.2005
29. Wen SX, Teel LD, Judge NA, O'Brien AD. Genetic toxoids of Shiga toxin types 1 and 2 protect mice against homologous but not heterologous toxin challenge. *Vaccine*. 2006;24(8):1142-1148. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.08.094
30. Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O'Brien AD. Development of a hybrid Shiga holotoxoid vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2. *Vaccine*. 2006;24(19):4122-4129. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.02.035
31. Tsuji T, Shimizu T, Sasaki K, Shimizu Y, Tsukamoto K, Arimitsu H, et al. Protection of mice from Shiga toxin-2 toxemia by mucosal vaccine of Shiga toxin 2B-His with *Escherichia coli* enterotoxin. *Vaccine*. 2008;26(4):469-476. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.11.038
32. Cheng Y, Feng Y, Luo P, Gu J, Yu S, Zhang WJ, et al. Fusion expression and immunogenicity of EHEC EspA-Stx2AI protein: implications for the vaccine development. *J Microbiol*. 2009;47(4):498-505. DOI: 10.1007/s12275-009-0116-8
33. Mohawk KL, Melton-Celsa AR, Robinson CM, O'Brien AD. Neutralizing antibodies to Shiga toxin type 2 (Stx2) reduce colonization of mice by Stx2-expressing *Escherichia coli* O157:H7. *Vaccine*. 2010;28(30):4777-4785. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.04.099
34. Cai K, Gao X, Li T, Wang Q, Hou X, Tu W, et al. Enhanced immunogenicity of a novel Stx2Am-Stx1B fusion protein in a mice model of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Vaccine*. 2011;29(5):946-952. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.11.035
35. Gao X, Cai K, Li T, Wang Q, Hou X, Tian R, et al. Novel fusion protein protects against adherence and toxicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Vaccine*. 2011;29(38):6656-6663. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.06.106
36. Zhang XH, He KW, Zhang SX, Lu WC, Zhao PD, Luan XT, et al. Subcutaneous and intranasal immunization with Stx2B-Tir-Stx1B-Zot reduces colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Vaccine*. 2011;29(22):3923-3929. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.02.007
37. Mejias MP, Ghersi G, Craig PO, Panek CA, Bentancor LV, Baschkier A, et al. Immunization with a chimera consisting of the B subunit of Shiga toxin type 2 and *Brucella* lumazine synthase confers total protection against Shiga toxins in mice. *J Immunol*. 2013;191(5):2403-2411. DOI: 10.4049/jimmunol.1300999
38. Mejias MP, Cabrera G, Fernández-Brando RJ, Baschkier A, Ghersi G, Abrey-Recalde MJ, et al. Protection of mice against Shiga toxin 2 (Stx2)-associated damage by maternal immunization with a *Brucella* lumazine synthase-Stx2 B subunit chimera. *Infect Immun*. 2014;82(4):1491-1499. DOI: 10.1128/IAI.00027-14
39. Kazemi R, Akhavian A, Amani J, Salimian J, Motamedi MJ, Mousavi A, et al. Immunogenic properties of trivalent recombinant protein composed of B-subunits of LT, STX-2, and CT toxins. *Microbes Infect*. 2016;18(6):421-429. DOI: 10.1016/j.micinf.2016.03.001
40. Schmidt N, Barth SA, Frahm J, Meyer U, Dänicke S, Geue L, Menge C. Decreased STEC shedding by cattle following passive and active vaccination based on recombinant *Escherichia coli* Shiga toxoids. *Vet Res*. 2018;49(1):28. DOI: 10.1186/s13567-018-0523-0
41. Lu X, Skurnik D, Pozzi C, Roux D, Cywes-Bentley C, Ritchie JM, et al. A Poly-N-acetylglucosamine-Shiga toxin broad-spectrum conjugate vaccine for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *mBio*. 2014;5(2):e00974-14. DOI: 10.1128/mBio.00974-14.
42. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión [The epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Argentina. Diagnosis of the etiologic agent, reservoirs and routes of transmission]. *Medicina (B Aires)*. 2006;66 Suppl 3:27-32. Spanish.
43. Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol*. 2005;295(6-7):405-418. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.009

References

- Svetoch EA, Dyatlov IA, Kartsev NN, Eruslanov BV, Kanashenko ME, Fursova NK. Development of candidate vaccines against infection caused by shiga-toxin producing *Escherichia coli*. Part 1. *Bacteriology*. 2020; 5(2): 56–70. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-2-56-70 (In Russian).
- Gansheroff LJ, Wachtel MR, O'Brien AD. Decreased adherence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* to HEp-2 cells in the presence of antibodies that recognize the C-terminal region of intimin. *Infect Immun*. 1999;67(12):6409-6417.
- Judge NA, Mason HS, O'Brien AD. Plant cell-based intimin vaccine given orally to mice primed with intimin reduces time of *Escherichia coli* O157:H7 shedding in feces. *Infect Immun*. 2004;72(1):168-175. DOI: 10.1128/iai.72.1.168-175.2004
- Babiuk S, Asper DJ, Rogan D, Mutwiri GK, Potter AA. Subcutaneous and intranasal immunization with type III secreted proteins can prevent colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Microb Pathog*. 2008;45(1):7-11. DOI: 10.1016/j.micpath.2008.01.005
- Cataldi A, Yevsa T, Vilte DA, Schulze K, Castro-Parodi M, Larzábal M, et al. Efficient immune responses against Intimin and EspB of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* after intranasal vaccination using the TLR2/6 agonist MALP-2 as adjuvant. *Vaccine*. 2008;26(44):5662-5667. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.07.027
- Gu J, Liu Y, Yu S, Wang H, Wang Q, Yi Y, et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* trivalent recombinant vaccine containing EspA, intimin and Stx2 induces strong humoral immune response and confers protection in mice. *Microbes Infect*. 2009;11(10-11):835-841. DOI: 10.1016/j.micinf.2009.04.024
- Amani J, Salmanian AH, Rafati S, Mousavi SL. Immunogenic properties of chimeric protein from espA, eae and tir genes of *Escherichia coli* O157:H7. *Vaccine*. 2010;28(42):6923-6929. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.07.061
- Yazdanparast A, Mousavi SL, Rasooli I, Amani J, Jalalinadoushan M. Immunogenical study of chimeric recombinant intimin-Tir of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Archives of Clinical Infectious Diseases*. 2012;7(2):45-51.
- Rad HS, Mousavi SL, Rasooli I, Amani J, Nadooshan MR. EspA-Intimin chimeric protein, a candidate vaccine against *Escherichia coli* O157:H7. *Iran J Microbiol*. 2013;5(3):244-51.
- Lin R, Zhu B, Zhang Y, Bai Y, Zhi F, Long B, et al. Intranasal immunization with novel EspA-Tir-M fusion protein induces protective immunity against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 challenge in mice. *Microb Pathog*. 2017;105:19-24. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.062
- Karimi Rahjerdi A, Jafari M, Motamedi MJ, Amani J, Salmanian AH. Immunogenic Evaluation of Bivalent Vaccine Candidate against Enterohemorrhagic and Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Iran J Immunol*. 2019;16(3):200-211.
- Li T, Han R, Wang Q, Wang S, Fang H, Li Z, et al. Immunogenicity of recombinant porcine attaching and effacing-associated protein compared with intimin fragment in *Escherichia coli* O157:H7-infected mice. *Foodborne Pathog Dis*. 2013;10(12):1016-1022. DOI: 10.1089/fpd.2013.1496
- Stepanshin YuG, Svetoch EA, Eruslanov BV, Bannov VA, Borzenkov VN, Kavruk LS. Bakterionositel'stvo enterogemorragicheskikh esherikhii serovara O157:H7 u zhivotnykh. *Veterinariya*. 2005;7:17-21.
- Smith JL, Fratamico PM, Gunther NW 4th. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Adv Appl Microbiol*. 2014;86:145-197. DOI: 10.1016/B978-0-12-800262-9.00003-2
- Gonzalez AGM, Cerqueira AMF. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the animal reservoir and food in Brazil. *J Appl Microbiol*. 2020;128(6):1568-1582. DOI: 10.1111/jam.14500

16. Potter AA, Klashinsky S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, et al. Decreased shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine*. 2004;22(3-4):362-369. DOI: 10.1016/j.vaccine.2003.08.007
17. Peterson RE, Klopfenstein TJ, Moxley RA, Erickson GE, Hinkley S, Rogan D, Smith DR. Efficacy of dose regimen and observation of herd immunity from a vaccine against *Escherichia coli* O157:H7 for feedlot cattle. *J Food Prot*. 2007;70(11):2561-2567. DOI: 10.4315/0362-028x-70.11.2561
18. McNeilly TN, Naylor SW, Mahajan A, Mitchell MC, McAteer S, Deane D, et al. *Escherichia coli* O157:H7 colonization in cattle following systemic and mucosal immunization with purified H7 flagellin. *Infect Immun*. 2008;76(6):2594-2602. DOI: 10.1128/IAI.01452-07
19. Vilte DA, Larzábal M, Garbaccio S, Gammella M, Rabinovitz BC, Elizondo AM, et al. Reduced faecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle following systemic vaccination with γ -intimin C₂₈₀ and EspB proteins. *Vaccine*. 2011;29(23):3962-3968. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.03.079
20. Yekta MA, Goddeeris BM, Vanrompay D, Cox E. Immunization of sheep with a combination of intimin, EspA and EspB decreases *Escherichia coli* O157:H7 shedding. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011;140(1-2):42-46. DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.11.010
21. Zhang X, Yu Z, Zhang S, He K. Immunization with H7-HCP-tir-intimin significantly reduces colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in goats. *PLoS One*. 2014;9(3):e91632. DOI: 10.1371/journal.pone.0091632
22. Dean-Nystrom EA, Gansheroff LJ, Mills M, Moon HW, O'Brien AD. Vaccination of pregnant dams with intimin(O157) protects suckling piglets from *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Infect Immun*. 2002;70(5):2414-2418. DOI: 10.1128/iai.70.5.2414-2418.2002
23. Soon JM, Seaman P, Baines RN. *Escherichia coli* O104:H4 outbreak from sprouted seeds. *Int J Hyg Environ Health*. 2013;216(3):346-354. DOI: 10.1016/j.ijheh.2012.07.005
24. Gordon VM, Whipp SC, Moon HW, O'Brien AD, Samuel JE. An enzymatic mutant of Shiga-like toxin II variant is a vaccine candidate for edema disease of swine. *Infect Immun*. 1992;60(2):485-490.
25. Dobrescu L. New biological effect of edema disease principle (*Escherichia coli*-neurotoxin) and its use as an *in vitro* for this toxin. *Am J Vet Res*. 1983;44(1):31-34.
26. Bosworth BT, Samuel JE, Moon HW, O'Brien AD, Gordon VM, Whipp SC. Vaccination with genetically modified Shiga-like toxin IIe prevents edema disease in swine. *Infect Immun*. 1996;64(1):55-60.
27. Ishikawa S, Kawahara K, Kagami Y, Isshiki Y, Kaneko A, Matsui H, et al. Protection against Shiga toxin 1 challenge by immunization of mice with purified mutant Shiga toxin 1. *Infect Immun*. 2003;71(6):3235-3239. DOI: 10.1128/iai.71.6.3235-3239.2003
28. Marcato P, Griener TP, Mulvey GL, Armstrong GD. Recombinant Shiga toxin B-subunit-keyhole limpet hemocyanin conjugate vaccine protects mice from Shigatoxemia. *Infect Immun*. 2005;73(10):6523-6529. DOI: 10.1128/IAI.73.10.6523-6529.2005
29. Wen SX, Teel LD, Judge NA, O'Brien AD. Genetic toxoids of Shiga toxin types 1 and 2 protect mice against homologous but not heterologous toxin challenge. *Vaccine*. 2006;24(8):1142-1148. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.08.094
30. Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM, Melton-Celsa AR, O'Brien AD. Development of a hybrid Shiga holotoxoid vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2. *Vaccine*. 2006;24(19):4122-4129. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.02.035
31. Tsuji T, Shimizu T, Sasaki K, Shimizu Y, Tsukamoto K, Arimitsu H, et al. Protection of mice from Shiga toxin-2 toxemia by mucosal vaccine of Shiga toxin 2B-His with *Escherichia coli* enterotoxin. *Vaccine*. 2008;26(4):469-476. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.11.038
32. Cheng Y, Feng Y, Luo P, Gu J, Yu S, Zhang WJ, et al. Fusion expression and immunogenicity of EHEC EspA-Stx2AI protein: implications for the vaccine development. *J Microbiol*. 2009;47(4):498-505. DOI: 10.1007/s12275-009-0116-8
33. Mohawk KL, Melton-Celsa AR, Robinson CM, O'Brien AD. Neutralizing antibodies to Shiga toxin type 2 (Stx2) reduce colonization of mice by Stx2-expressing *Escherichia coli* O157:H7. *Vaccine*. 2010;28(30):4777-4785. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.04.099
34. Cai K, Gao X, Li T, Wang Q, Hou X, Tu W, et al. Enhanced immunogenicity of a novel Stx2Am-Stx1B fusion protein in a mice model of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Vaccine*. 2011;29(5):946-952. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.11.035
35. Gao X, Cai K, Li T, Wang Q, Hou X, Tian R, et al. Novel fusion protein protects against adherence and toxicity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Vaccine*. 2011;29(38):6656-6663. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.06.106
36. Zhang XH, He KW, Zhang SX, Lu WC, Zhao PD, Luan XT, et al. Subcutaneous and intranasal immunization with Stx2B-Tir-Stx1B-Zot reduces colonization and shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in mice. *Vaccine*. 2011;29(22):3923-3929. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.02.007
37. Mejias MP, Ghersi G, Craig PO, Panek CA, Bentancor LV, Baschkier A, et al. Immunization with a chimera consisting of the B subunit of Shiga toxin type 2 and *Brucella* lumazine synthase confers total protection against Shiga toxins in mice. *J Immunol*. 2013;191(5):2403-2411. DOI: 10.4049/jimmunol.1300999
38. Mejias MP, Cabrera G, Fernández-Brando RJ, Baschkier A, Ghersi G, Abrey-Recalde MJ, et al. Protection of mice against Shiga toxin 2 (Stx2)-associated damage by maternal immunization with a *Brucella* lumazine synthase-Stx2 B subunit chimera. *Infect Immun*. 2014;82(4):1491-1499. DOI: 10.1128/IAI.00027-14
39. Kazemi R, Akhavian A, Amani J, Salimian J, Motamedi MJ, Mousavi A, et al. Immunogenic properties of trivalent recombinant protein composed of B-subunits of LT, STX-2, and CT toxins. *Microbes Infect*. 2016;18(6):421-429. DOI: 10.1016/j.micinf.2016.03.001
40. Schmidt N, Barth SA, Frahm J, Meyer U, Dänicke S, Geue L, Menge C. Decreased STEC shedding by cattle following passive and active vaccination based on recombinant *Escherichia coli* Shiga toxoids. *Vet Res*. 2018;49(1):28. DOI: 10.1186/s13567-018-0523-0
41. Lu X, Skurnik D, Pozzi C, Roux D, Cywes-Bentley C, Ritchie JM, et al. A Poly-N-acetylglucosamine-Shiga toxin broad-spectrum conjugate vaccine for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *mBio*. 2014;5(2):e00974-14. DOI: 10.1128/mBio.00974-14.
42. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del síndrome urémico hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión [The epidemiology of hemolytic uremic syndrome in Argentina. Diagnosis of the etiologic agent, reservoirs and routes of transmission]. *Medicina (B Aires)*. 2006;66 Suppl 3:27-32. Spanish.
43. Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol*. 2005;295(6-7):405-418. DOI: 10.1016/j.ijmm.2005.06.009

Информация об авторах:

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии и ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967)36-0079
 E-mail: svetoch@obolensk.org

Дятлов Иван Алексеевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967)36-0003
 E-mail: dyatlov@obolensk.org

Карцев Николай Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967)36-0079
 E-mail: kartsev@obolensk.org

Ерусланов Борис Васильевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967)36-0079
 E-mail: erus47@yandex.ru

Канашенко Мария Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
 Телефон: (4967)36-0079
 E-mail: kanashenko@obolensk.org

Information about authors:

Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Veterinary Science), professor, chief researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology.
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: svetoch@obolensk.org

Ivan A. Dyatlov, Academician of the Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, professor, Director of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003
 E-mail: dyatlov@obolensk.org

Nikolay N. Kartsev, MD, PhD, senior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: kartsev@obolensk.org

Boris V. Eruslanov, MD, PhD, DSc, leading researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: erus47@yandex.ru

Maria E. Kanashenko, junior researcher of antimicrobial agents laboratory, molecular microbiology departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
 Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0079
 E-mail: kanashenko@obolensk.org

NDR при заболеваниях

Показано, что NDR1 и 2 участвуют в противовирусном ответе организма, положительно регулируя противовирусный иммунный ответ, индуцированный геном I, индуцируемым ретиноевой кислотой. Имеются некоторые свидетельства того, что киназы NDR1 и 2 были включены в частицы ВИЧ-1. Они также участвуют в патогенности ВИЧ-1, поскольку NDR1 и 2 могут расщепляться протеазой ВИЧ и, следовательно, ингибировать их активность.

Также было показано, что NDR1 и 2 действуют как защитные свойства от других заболеваний. NDR1 может фосфорилировать Yes-ассоциированные белки и, следовательно, действовать как опухолевый супрессор при колоректальном раке. Более того, NDR1 участвует в репликации, положительно регулируя дупликацию центросом. Следовательно, NDR1 и 2 играют разные роли в иммунной системе животных, начиная от нормальной клеточной функции и заканчивая защитой хозяина от патогенных инфекций и воспаления.

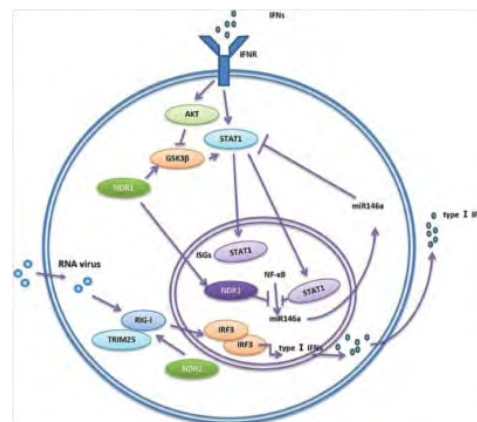


Рисунок скопирован с сайта <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00534/full>

NDR1 и 2 могут быть задействованы как в заболеваниях растений, так и в заболеваниях животных, в дополнение к их роли в общем иммунитете и воспалении. У растений устойчивость к бактериальным и грибковым патогенам опосредуется генами устойчивости растений к болезням (R). Однако для этого также требуется ген NDR1. Следовательно, гены NDR неразрывно связаны с иммунным ответом против болезней как у растений, так и у животных.

Растения с дефицитом NDR1 демонстрируют повышенный рост популяций патогенов. В частности, NDR1 необходим для устойчивости к бактериальным и грибковым патогенам. Мутации NDR1 увеличивают восприимчивость растений к штаммам бактерий *Pseudomonas syringae* и грибов *Peronospora parasitica*.

NDR1/2's Role in Infection [Electronic resource].

News-Medical.net. 2020. URL: <https://www.news-medical.net/life-sciences/NDR12e28099s-Role-in-Infection.aspx>