

**ИММУНОМОДУЛЯЦИЯ, КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ  
ЖИВОЙ ЧУМНОЙ ВАКЦИНЫ**

**Пономарёва Т.С., Дерябин П.Н., Тугамбаев Т.И.,  
Мельникова Н.Н., Адамбеков Д.А.**

Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций имени М.Айкимбаева  
Алматы, Республика Казахстан

**Резюме.** В модельных опытах по заражению 179 морских свинок вирулентным штаммом *Y. pestis* показано, что предварительная иммунизация животных живой чумной вакциной EV в сочетании с иммуномодуляторами (полиоксидоний или беталейкин) существенно повышает ее иммуногенную (увеличивается титр специфических антител) и протективную активность (увеличивается количество выживших морских свинок) в сравнении с иммунизацией только живой чумной вакциной EV. Введение беталейкина без вакцины не защищает морских свинок от чумной инфекции

**Ключевые слова:** чума, живая чумная вакцина EV, иммуномодуляция, морская свинка.

**ИММУНОМОДУЛЯЦИЯ, КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ ЖИВОЙ  
ЧУМНОЙ ВАКЦИНЫ**

**Ponomaryova T.S., Deryabin P.N., Tugambayev T.I.,  
Melnikova N.N., Adambekov D.A.**

Aikimbaev Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections  
Almaty, Republic of Kazakhstan

**Resume.** In model experiments on the infection of 179 guinea pigs a virulent strain of *Y. pestis* was shown that pre-immunization with a live animal plague vaccine EV in combination with immunomodulators (polyoxidonium or Betaleukin) substantially increases its immunogenic (increased titers of specific antibodies) and a protective activity (increased number of surviving sea pigs), compared to immunization with the living, plague vaccine EV. Introduction Betaleukin no vaccine does not protect guinea pigs against plague infection

**Key words:** swine, live plague vaccine EV, immunomodulation, guinea pig.

Специфическая иммунопрофилактика является наиболее эффективным методом борьбы с инфекционными болезнями. Благодаря вакцинации человечеству удалось победить натуральную оспу, снизить до спорадической заболеваемость полиомиелитом, дифтерией, корью. Однако не все используемые сегодня вакцины обладают достаточной иммуногенностью. К таким вакцинам в частности относится вакцина против чумы.

Учитывая, что чума остается крайне актуальной особо опасной карантинной инфекцией, в первую очередь из-за очень обширных территорий ее природных очагов, которые занимают около 7% суши земного шара, в том числе около 40% территории Казахстана [1]. Существенное увеличение роли чумы, как инфекции, представляющей серьезную опасность для человечества, связано с тем, что ее возбудитель может быть использован биотеррористами [2]. Поэтому повышение эффективности вакцинации против чумы остается актуальной задачей.

Используемая в Казахстане и других странах СНГ для специфической иммунопрофилактики чумы живая вакцина на основе штамма *Yersinia pestis* EV снижают как заболеваемость (в среднем в 10 раз), так и летальность. Применение этой вакцины требует ежегодной ревакцинации. При этом будучи достаточно активной при первичной вакцинации, она мало пригодна для повторных ревакцинаций, так как на фоне первично сформированного иммунитета не происходит вторичное приживление живой вакцинной культуры; при этом сохранившегося поствакцинального уровня иммунитета недостаточно для защиты от вирулентных чумных клеток [3].

Иммуногенные свойства вакцин могут быть усилены применением препаратов, обладающих иммуномодулирующими свойствами [4].

Наибольший интерес в этом плане представляют два препарата: азоксимера бромид и рекомбинантный интерлейкина-1 $\beta$ . Разработанный в Институте иммунологии (Москва, РФ) на основе азоксимера бромида синтетический иммуномодулятор полиоксидоний успешно зарекомендовал себя при разработке и применении ряда вакцин [5,6]. Интерлейкин -1  $\beta$  является ключевым, инициирующим иммунный ответ цитокином, а наличие в вакцине компонентов, определяющих синтез и секрецию этого цитокина, определяет ее эффективность [4]. На ряде моделей вакцинации показано иммуномодулирующее действие препаратов рекомбинантного интерлейкина-1 $\beta$ , в частности беталейкина [7-9].

**Целью** настоящей работы было изучение иммуномодуляции на протективную активность живой чумной вакцины в модельных опытах заражения морских свинок.

**Материалы и методы.**

В работе использована живая чумная вакцина производства Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций имени М.Айкимбаева (Алматы, Казахстан), созданная на основе штамма *Y. pestis* EV.

В качестве иммуномодуляторов были испытаны Полиоксидоний (НПО «ПетроваксФарм», Россия) и Беталейкин (ООО «Цитокины», Россия).

Для заражения морских свинок использовали вирулентный штамм чумного микроба (*Y. pestis*, 231), полученный из республиканского депозитария особо опасных микроорганизмов в Казахском научном центре карантинных и зоонозных инфекций.

Оценку влияние иммуномодуляторов на иммуногенную (протективную) активность вакцины изучали в опытах на морских свинках. Морские свинки для этого эксперимента были выбраны потому, что эта модель заражения лабораторных животных является стандартной

Таблица 1.  
Результаты модельных опытов на морских свинках

Группа животных	Количество животных (в числителе - погибшие после заражения/ в знаменателе - общее количество, в скобках – относительное количество погибших животных и его средняя квадратическая ошибка в %)	Средний Lg титра и его средняя квадратическая ошибка /обратный среднегеометрический титр и его средняя квадратическая ошибка
Опытная № 1	6/64 (9,4 ± 3,6)	3,1559 ± 0,0299 / 1430 ± 1,1
Опытная № 2	4/23 (17,4 ± 7,9)	3,1431 ± 0,0361 / 1400 ± 1,0
Контрольная № 3	52/82 (63,4 ± 5,3)	2,8915 ± 0,1175 /800 ± 1,3
Контрольная № 4	10/10 (100)	Не исследовали

при выполнении экспериментов с *Y. pestis*, в частности при оценке протективной активности чумных вакцин, и используется с 30-ых годов прошлого столетия [10].

Животные опытной группы № 1 (64 морские свинки) были иммунизированы в краевую вену уха живой чумной вакциной EV (10<sup>6</sup> м.к.) с одновременным внутривенным введением полиоксидония (0,2 мг/кг в 0.5 мл 0.85 % растворе натрия хлорида); животные опытной группы № 2 (23 морские свинки) были иммунизированы живой чумной вакциной EV (10<sup>6</sup> м.к.) с одновременным в/в введением беталейкина (0,5 мкг). Животным контрольной группы №3 (82 морские свинки) вводили внутривенно только живую чумную вакцину EV (10<sup>6</sup> микробных клеток). Животным контрольной группы № 4 (10 морских свинок) вводили внутривенно только беталейкин (0,5 мкг). На 21 сутки после иммунизации (или введения беталейкина) все животные были заражены вирулентным штаммом *Y. pestis* 231 в дозе 200 DCI .

Иммуногенную активность оценивали по титру антител к капсульному антигену F1 *Y. pestis* на 14-ый день после иммунизации в реакции пассивной геммагглютинации с использованием антигенного эритроцитарного диагностикума производства КНЦКЗИ имени М.Айкимбаева. Кровь для исследования брали из сердца, сыворотку отделяли стандартным методом.

Протективную активность вакцины и влияние на нее иммуномодуляции оценивали по количеству животных, погибших на 14-ый день после заражения. Оставшихся в живых животных умерщвляли путем тотального обескровливания, предварительно усыпив их эфиром. Из селезенки павших и умерщвленных животных делали высев на агар Хотингера.

В работе применяли статистические методы частных сравнений серий. Результат считали значимым при P≤0,05.

Протоколы проведения опытов (№№ 3-8) были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии КНЦКЗИ имени М.Айкимбаева.

#### Результаты и обсуждение.

Полученные на модели иммунизации вакциной EV морских свинок результаты второй серии опытов приведены в таблице 1.

Титр антител определяли у 5 морских свинок из группы №1, у 3 – из группы №2 и у 8 – из группы №3. Со дня забора крови (14 день после иммунизации) и до

момента заражения животных на 21 день гибели этих животных не отмечено. Титр антител в сыворотке крови животных опытных групп был практически одинаковым и существенно (P<0,05) выше (1: 1430 и 1:1400), чем в контрольной группе (№3) (1:800). В контрольной группе № 4 все животные пали в течение 5 дней после заражения. У всех животных этой группы из селезенки выделена культура *Y. pestis* 231. В контрольной группе (№ 3) после заражения пало 52 животных. Выжившие животные были забиты на 14 сутки после заражения, из селезенки всех павших и 10 из 30 (33.3±8.6 %) выживших животных этой группы выделена культура *Y. pestis* 231. В опытной группе № 1 в течение 14 дней после заражения пало 6 животных, а в опытной группе № 2 – 4 животных, что достоверно (P<0,01) меньше, чем в контрольной группе № 3. Оставшиеся в живых морские свинки были забиты на 14 сутки после заражения. Культура *Y. pestis* 231 в этих группах не была выделена ни у павших, ни у выживших животных. Следовательно, применение иммуномодуляторов предотвратило не только гибель зараженных морских свинок, но и обсеменение их селезенки вирулентным штаммом *Y. pestis*. Достоверного различия количества павших животных в группах 1 и 2 не выявлено (P>>0,05).

Таким образом, применение иммуномодуляторов (полиоксидония и беталейкина) в опытах на морских свинках повышало как иммуногенную, так и протективную активность живой чумной вакцины.

#### Выводы.

1. Сочетанное применение живой чумной вакцины EV с иммуномодуляторами (полиоксидоний и беталейкин) существенно повышает ее иммуногенные (протективные) свойства в модельных опытах по заражению морских свинок.

2. Введение только беталейкина не оказывает защитного эффекта при заражении морских свинок вирулентным штаммом *Y. pestis*.

#### Литература:

1. Атлас распространения особо опасных инфекций в Республике Казахстан. Алматы, 2012, 232 с. Составление и редакция: Л.А. Бурделов;

2. Inglesby T.V., Dennis D. T., Henderson D.A., Bartlett J.G., Ascher M.S., Eitzen E., Fine A.D., Friedlander A.M., Hauer J., Koerner J.F., MPH, Layton M., McDade J., Osterholm M.T., O'Toole

- T., Parker G., Perl T.M., Russell P.K., Schoch-Spana M., Tonat K. *Plague as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense//JAMA.*- 2000.- v.283.-p.2281–2290;
3. Feodorova VA, and Motin VL (2012). *Plague vaccines: current developments and future perspectives. Emerg Microbes Infect.* 2012 November; 1(11): e36. Published online 2012 November 7. doi: 10.1038/emi.2012.34.;
4. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммуногены и вакцины нового поколения.-М.-2011.-608 с.;
5. Некрасов А.В., Пучкова Н.Г. Стратегия совершенствования и методы оценки гриппозных вакцин. Гриппол® плюс – современная защита от гриппа//Русский медицинский журнал.- 2008.-т.16.-№23.-с.1-4.;
6. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Полиоксидоний: новые аспекты применения. Новые лекарства.-2003.-№3.-с 21;
7. Авдеева Ж.И., Акользина С.Е., Алпатова Н.А. и др. Влияние цитокинов на иммуногенные свойства вакцины против клещевого энцефалита//Цитокины и воспаление.-2009.-т.8.-№2.-с.16 – 21;
8. Симбирцев А.С., Петров А.В., Пизгарева Н.В., Николаев А.Т. Новые возможности применения рекомбинантных цитокинов в качестве адъювантов при вакцинации//Биопрепараты.- 2011.-№1(41).-с. 16 – 20;
9. Omarova M, Karalnik BV, Denisova TG, Kalymbetov A (2011). *Influence of immunomodulation on the first stage of antigen specific response to herpes vaccine in experiment. MHSJ.* 8: 21-26. [http://academicpublishingplatforms.com/downloads/pdfs/mhsj/volume8/201110232245\\_05\\_MHSJ\\_Vol8\\_Omarova\\_Karalnik\\_et\\_al\\_Influence\\_of\\_immunomodulation\\_pp.21-26.pdf](http://academicpublishingplatforms.com/downloads/pdfs/mhsj/volume8/201110232245_05_MHSJ_Vol8_Omarova_Karalnik_et_al_Influence_of_immunomodulation_pp.21-26.pdf)
10. Girard G., Robic J. *La vaccination de l'homme contre la peste au moyen de bacilles vivantes (virus vaccin E.V.). Son application a Madagascar // Bull. Off. Int. Hyg. Publ.* 1936. - Vol. 28, № 6. - P. 1078 - 1087.