

ДИНАМИКА АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО ОТВЕТА У ЛЮДЕЙ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ЖИВОЙ ЧУМНОЙ ВАКЦИНОЙ

Пономарева Т. С.

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

**Резюме.** Ранее нами была показана связь между начальной стадией иммунного ответа в эксперименте на животных (кроликах), иммунизированных живой чумной вакциной, который оценивали по выявлению лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis*, и антительным ответом на эти же антигены (эффекторная стадия иммунного ответа). На данном этапе была дана оценка начальной стадии иммунного ответа - появление лимфоцитов с рецепторами (Лфр) у повторно вакцинированных людей вакциной Живой чумной сухой (ЖЧС) и исчезновение их раньше, чем у людей впервые вакцинированных вакциной.

**Ключевые слова:** чума, вакцина, вакцинация, иммунный ответ.

DYNAMICS OF ANTIGEN SPECIFIC INDICES OF IMMUNE RESPONSE IN PEOPLE VACCINATED WITH ALIVE PLAGUE VACCINE

Ponomareva T. S.

Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases named after M. Aykimbaev  
Almaty, Republic of Kazakhstan

**Resume.** We have previously shown an association between the initial stage of the immune response in experimental animals (rabbits) immunized with live plague vaccine, which is assessed to identify lymphocyte receptors to antigens *Y. pestis*, and the antibody response to the same antigens (effector phase of the immune response). At this stage, it is there are assessed the initial stages of the immune response - the emergence of lymphocyte receptors (Lfr) in re-vaccinated people Living plague vaccine dry (ZHCHS) and eliminating them before than in people first vaccinated with the vaccine.

**Key words:** swine, vaccine, vaccination, the immune response.

**Введение.**

Природные очаги чумы имеются во всех странах Центральной Азии, в том числе и в Казахстане и в Кыргызстане. Только в Казахстане природные очаги чумы занимают уже более 40% территории страны [1]. И в Казахстане и в Кыргызстане для профилактики чумы используют живую чумную вакцину на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ [2]. Вакцинации подлежат специалисты, работающие в противочумных организациях, а также люди, живущие и работающие в природных очагах чумы. Вакцинация также является важным составляющим компонентом в ликвидации последствий возможных террористических актов с применением чумного микроба [3]. Несмотря на то, что эта вакцина применяется уже более 50 лет, иммунный ответ на эту вакцину характеризуются преимущественно лишь по определению активности антител к различным антигенам чумного микроба [2,4]. Практически не изученной остается начальная стадия иммунного ответа на живую чумную вакцину у людей, характеризующаяся появлением антигенспецифических лимфоцитов. Ранее в эксперименте на кроликах, иммунизированных живой чумной вакциной, нами показана связь между начальной стадией иммунного ответа, оцениваемого по выявлению лимфоцитов с рецепторами к антигенам *Y. pestis*, и антительным ответом на эти же антигены (эффекторная стадия иммунного ответа) [5].

**Цель настоящего исследования** – оценка начальной стадии иммунного ответа (по выявлению лимфоцитов с рецепторами к антигенам чумного микроба) и его эффекторной стадии (по определению активности антител к этим же антигенам) у людей, иммунизированных живой чумной вакциной.

**Материалы и методы.**

Обследовали 13 здоровых взрослых людей,

иммунизированных живой чумной вакциной EV. 6 человек были вакцинированы первично, 7 человек - повторно (не менее чем через 1 год после предыдущей вакцинации). Вакцинацию проводили методом скарификации, одна доза вакцины содержала  $3 \times 10^9$  живых микробных клеток. Кровь для исследования брали из локтевой вены до вакцинации и на 2, 4-6, 7-9, 13-14, 20-21, 27-28, 34-35, 42 и 62-63 после вакцинации. Для выделения лимфоцитов кровь брали в пробирку с гепарином, для получения сыворотки – в сухую пробирку. Все вакцинированные люди относились к декретируемому контингенту лиц, подлежащих вакцинации против чумы, и дали добровольное информированное согласие на использование данных их обследования в научных публикациях

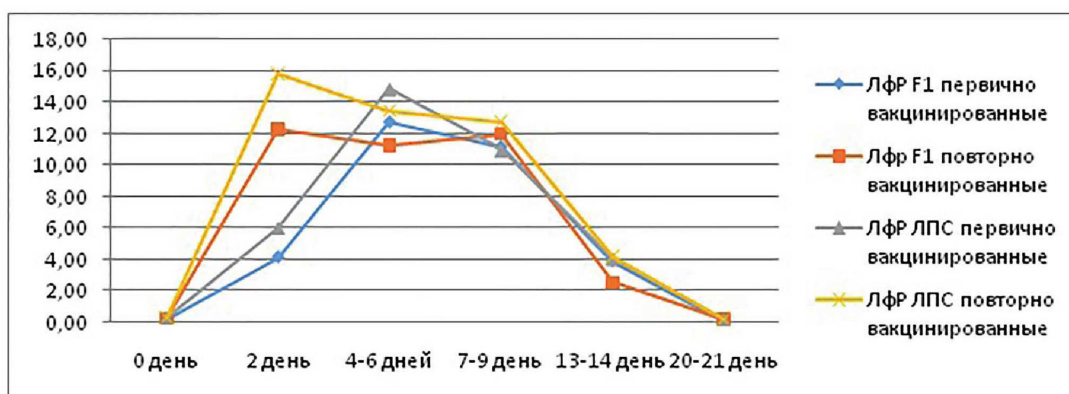
Содержание лимфоцитов с рецепторами (Лфр) к антигенам *Y. pestis* F1 и ЛПС определяли в реакции адгезии к лимфоцитам иммунореагентов и, полученных нами конъюгацией F1 при помощи риванола и ЛПС без посредников с эритроцитами быка, фиксированными ацетальдегидом, как описано ранее [6]. Параллельно выполняли такие анализы с контрольным реагентом - эритроцитами, не нагруженными антигенами *Y. pestis*.

Активность антител определяли в РНГА с использованием антигенных эритроцитарных диагностикумов для выявления антител к капсульному антигену *Y. pestis* F1 и ЛПС производства КНЦКЗИ имени М.Айкимбаева. РНГА ставили микрометодом по обычной методики. Каждую сыворотку исследовали 4 раза. Все сыворотки параллельно исследовали на наличие антител к формализированным эритроцитам барана.

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

**Результаты.**

Определение антигенспецифических популяций



По оси абсцисс – дни после вакцинации, по оси ординат – содержание ЛфР в %

Рис 1. Динамика содержания ЛфР у вакцинированных людей

Таблица 1.  
Динамика ЛфР у вакцинированных людей

№ вакцинируемого	Кратность вакцинации	Специфичность антител	Количества ЛфР и их средняя квадратическая ошибка, в %					
			До вакцинации	после вакцинации на				
				2 день	4-6 день	7-9 день	13-14 день	20-21 день
1	повторная	F1	0,14±0,14	6,43±0,30	6,71±0,18	19,0±0,31	0,14±0,14	0,29±0,18
3	повторная	F1	0,71±0,18	18,29±0,47	6,29±0,29	5,86±0,14	3,86±0,22	0,14±0,14
5	повторная	F1	0,29±0,18	15,29±0,18	15,86±0,14	9,71±0,36	1,71±0,18	0±0
7	повторная	F1	0,14±0,14	5,57±0,24	6,43±0,24	15,28±0,18	3,29±0,18	0,43±0,20
8	повторная	F1	0,14±0,14	15,43±0,38	15,43±0,28	9,86±0,34	2,71±0,20	0,14±0,14
10	повторная	F1	0,14±0,14	11,29±0,24	13,14±0,28	11,71±0,20	3,14±0,14	0,14±0,14
13	повторная	F1	0,14±0,14	13,57±0,20	14,71±0,18	12,43±0,20	2,86±0,14	0±0
Всего*	повторная	F1	0,24±0,08	12,27±1,81	11,22±1,71	11,98±1,60	2,53±0,47	0,16±0,06
2	первичная	F1	0,43±0,20	0,14±0,14	11,71±0,29	14,00±0,22	2,29±0,18	0,43±0,20
4	первичная	F1	0,29±0,18	4,00±0,22	13,57±0,37	9,29±0,29	3,29±0,18	0,14±0,14
6	первичная	F1	0,28±0,18	0,43±0,20	10,86±0,71	11,43±0,20	3,91±0,41	0,14±0,14
9	первичная	F1	0,43±0,20	13,71±0,18	16,00±0,24	10,43±0,24	4,57±0,20	0±0
11	первичная	F1	0±0	2,57±0,20	11,57±0,20	10,57±0,24	5,14±0,14	0±0
12	первичная	F1	0±0	4,00±0,24	12,71±0,24	11,28±0,18	4,29±0,18	0±0
Всего*	первичная	F1	0,24±0,08	4,14±2,03	12,74±0,76	11,17±0,65	3,91±0,41	0,12±0,07
1	повторная	ЛПС	0,14±0,14	18,0±0,31	18,71±0,36	19,14±0,34	16,28±0,32	0,14±0,14
3	повторная	ЛПС	0,71±0,20	19,14±0,34	6,71±0,18	6,00±0,22	1,71±0,20	0±0
5	повторная	ЛПС	0,43±0,20	15,29±0,29	16,14±0,34	11,29±0,36	0,86±0,14	0±0
7	повторная	ЛПС	0,28±0,18	16,57±0,20	16,43±0,28	16,71±0,24	2,43±0,20	0,29±0,18
8	повторная	ЛПС	0,14±0,14	15,57±0,34	6,14±0,34	11,29±0,34	1,86±0,14	0,43±0,20
10	повторная	ЛПС	0±0	10,57±0,20	14,00±0,24	12,28±0,18	3,14±0,14	0,14±0,14
13	повторная	ЛПС	0,14±0,14	15,71±0,18	16,29±0,24	12,29±0,18	2,71±0,18	0,14±0,14
Всего*	повторная	ЛПС	0,26±0,09	15,84±1,03	13,49±1,90	12,71±1,59	4,14±2,04	0,16±0,06
2	первичная	ЛПС	0,43±0,20	2,57±0,20	14,86±0,26	14,14±0,14	4,86±0,22	0,29±0,18
4	первичная	ЛПС	0,29±0,18	6,29±0,29	15,57±0,20	6,57±0,20	2,14±0,14	0±0
6	первичная	ЛПС	0,28±0,18	2,71±0,18	12,86±0,31	11,29±0,18	3,43±0,20	0,14±0,14
9	первичная	ЛПС	0,43±0,20	14,71±0,28	17,29±0,28	11,00±0,24	4,28±0,18	0,14±0,14
11	первичная	ЛПС	0,29±0,18	6,00±0,24	14,86±0,28	12,28±0,18	5,14±0,14	0,43±0,20
12	первичная	ЛПС	0,31±0,04	6,02±1,85	14,86±0,63	10,95±1,02	4,05±0,45	0,19±0,06
Всего*	первичная	ЛПС	0,31±0,04	6,02±1,85	14,86±0,63	10,95±1,02	4,05±0,45	0,19±0,06

Примечание: \*- среднее содержание ЛфР для группы

лимфоцитов

Содержание ЛфР к F1 и ЛПС приведено в таблице 1. Динамика их содержания приведена на рисунке 1.

Как видно из таблицы 1, до вакцинации ЛфР к F1 и ЛПС не обнаружены ни у одного из 13 обследованных людей, хотя 7 из них были вакцинированы ранее (не менее чем за год до настоящей вакцинации). После вакцинации ЛфР к F1 и ЛПС выявлены у всех вакцинированных людей. Обнаружено различие в динамике ЛфР у людей, вакцинированных первый раз и вакцинированных повторно. В группе первично вакцинированных ЛфР к F1 на второй день после вакцинации обнаружены только у 4 из 6 вакцинированных (их среднее содержание составило  $4,14 \pm 2,03\%$ ), а у вакцинированных повторно – у всех 7 человек и их среднее содержание было достоверно ( $P < 0,05$ ) более высоким ( $12,27 \pm 1,81\%$ ). Аналогичная картина отмечена при выявлении ЛфР к ЛПС: у первично вакцинированных среднее содержание ЛфР к ЛПС было  $6,02 \pm 1,85\%$ , а у вакцинированных повторно – значительно больше,  $15,84 \pm 1,03\%$ . На 13-14 день после вакцинации среднее содержание ЛфР к F1 в группе первично вакцинированных было достоверно большим, чем в группе повторно вакцинированных людей ( $3,91 \pm 0,541$  и  $2,53 \pm 0,47\%$  соответственно,  $P < 0,05$ ). Среднее содержание ЛфР к ЛПС в этот срок в обеих группах практически не различалось ( $4,05$  и  $4,14\%$  соответственно). В целом среднее содержание ЛфР и к F1 и к ЛПС у вакцинированных повторно было большим, чем при первичной вакцинации. Это хорошо видно на рисунке №1. Также следует отметить, что содержание ЛфР к ЛПС, как в группе первично вакцинированных, так и в группе вакцинированных повторно было существенно большим, чем ЛфР к F1.

Начиная с 20-21 дня после вакцинации, ЛфР обеих специфичностей не определялись.

**Динамика активности антител.**

У всех исследованных сывороток титр РГА с ФЭБ был менее 1:20. Как видно из таблицы 1, у первично вакцинированных людей до введения вакцины титр антитела к F1 отсутствовали (титр РПГА меньше 1:20). В этой же группе отмечено наличие низких титров

РПГА с ЭД из ЛПС (в среднем  $281 \pm 1,1$ ), что, вероятно обусловлено возможностью перекрестных реакций между ЛПС *Y. pestis* и другими бактериями кишечной группы, в частности кишечной палочки. Известно, что в крови здоровых людей имеется так называемый «естественный» уровень нормальных антител к условно-патогенным микроорганизмам, в том числе и к бактериям кишечной группы [Г.С.Шамсутдинова, Г.С.Суходоева, Н.П.Куценко и др. Нормальные антитела к некоторым штаммам энтеробактерий у доноров / В сб. «Актуальные проблемы инфекционной патологии и аллергологии», Алматы, 1995, с.203-209]. В группе повторно вакцинированных до вакцинации обнаружены низкие титры антител, как к F1, так и к ЛПС (средний титр  $399 \pm 1,2$  и  $407 \pm 1,2$  соответственно), что, по-видимому является результатом предыдущих вакцинаций. Следует отметить, что титр антител к ЛПС до вакцинации в группе повторно вакцинированных был достоверно ( $P < 0,05$ ), чем в группе первично вакцинированных.

Как видно из таблицы 2, достоверное нарастание титра антител к F1 и ЛПС отмечено на 7-9 день после вакцинации и продолжалось до конца наблюдения (62-63 день после вакцинации).

Динамика антител к обоим антигенам *Y. pestis* представлена на рисунке 2. С использованием метода сравнения двух кривых показано, что кривые динамики активности антител к F1 и ЛПС в группах первично и повторно вакцинированных параллельны. При этом обнаружено достоверное превышение титра антител к F1 в динамике поствакцинального ответа в группе повторно вакцинированных, по сравнению с группой вакцинированных первый раз ( $P < 0,05$ ). Достоверной разницы в титрах антител к ЛПС в этих группах не было ( $P > 0,05$ ).

**Обсуждение.**

Как уже говорилось выше, поствакцинальный антигенспецифический иммунный ответ протекает в две стадии: начальная и эффекторная [7-9]. Начальная стадия связана с появлением в организме вакцинированных людей и животных антигенспецифических лимфоцитов или лимфоцитов, имеющих рецепторы к антигенам

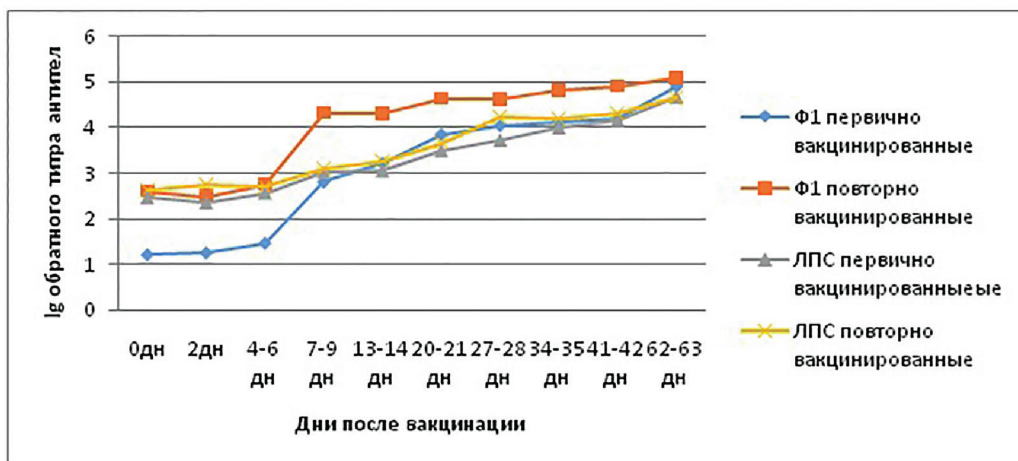


Рис 2. Динамика активности антител у вакцинированных людей

Таблица 2.

Динамика активности антител у вакцинированных людей

№ вакцинируемого	Кратность вакцинации	Специфичность антител	Количества ЛФР и их средняя квадратическая ошибка, в %					
			До вакцинации	после вакцинации на				
				2 день	4-6 день	7-9 день	13-14 день	20-21 день
1	повторная	F1	0,14±0,14	6,43±0,30	6,71±0,18	19,0±0,31	0,14±0,14	0,29±0,18
3	повторная	F1	0,71±0,18	18,29±0,47	6,29±0,29	5,86±0,14	3,86±0,22	0,14±0,14
5	повторная	F1	0,29±0,18	15,29±0,18	15,86±0,14	9,71±0,36	1,71±0,18	0±0
7	повторная	F1	0,14±0,14	5,57±0,24	6,43±0,24	15,28±0,18	3,29±0,18	0,43±0,20
8	повторная	F1	0,14±0,14	15,43±0,38	15,43±0,28	9,86±0,34	2,71±0,20	0,14±0,14
10	повторная	F1	0,14±0,14	11,29±0,24	13,14±0,28	11,71±0,20	3,14±0,14	0,14±0,14
13	повторная	F1	0,14±0,14	13,57±0,20	14,71±0,18	12,43±0,20	2,86±,14	0±0
Всего*	повторная	F1	0,24±0,08	12,27±1,81	11,22±1,71	11,98±1,60	2,53±0,47	0,16±0,06
2	первичная	F1	0,43±0,20	0,14±0,14	11,71±0,29	14,00±0,22	2,29±0,18	0,43±0,20
4	первичная	F1	0,29±0,18	4,00±0,22	13,57±0,37	9,29±0,29	3,29±0,18	0,14±0,14
6	первичная	F1	0,28±0,18	0,43±0,20	10,86±0,71	11,43±0,20	3,91±0,41	0,14±0,14
9	первичная	F1	0,43±0,20	13,71±0,18	16,00±0,24	10,43±0,24	4,57±0,20	0±0
11	первичная	F1	0±0	2,57±0,20	11,57±0,20	10,57±0,24	5,14±0,14	0±0
12	первичная	F1	0±0	4,00±0,24	12,71±0,24	11,28±0,18	4,29±0,18	0±0
Всего*	первичная	F1	0,24±0,08	4,14±2,03	12,74±0,76	11,17±0,65	3,91±0,41	0,12±0,07
1	повторная	ЛПС	0,14±0,14	18,0±0,31	18,71±0,36	19,14±0,34	16,28±0,32	0,14±0,14
3	повторная	ЛПС	0,71±0,20	19,14±0,34	6,71±0,18	6,00±0,22	1,71±0,20	0±0
5	повторная	ЛПС	0,43±0,20	15,29±0,29	16,14±0,34	11,29±0,36	0,86±0,14	0±0
7	повторная	ЛПС	0,28±0,18	16,57±0,20	16,43±0,28	16,71±0,24	2,43±0,20	0,29±0,18
8	повторная	ЛПС	0,14±0,14	15,57±0,34	6,14±0,34	11,29±0,34	1,86±0,14	0,43±0,20
10	повторная	ЛПС	0±0	10,57±0,20	14,00±0,24	12,28±0,18	3,14±0,14	0,14±0,14
13	повторная	ЛПС	0,14±0,14	15,71±0,18	16,29±0,24	12,29±0,18	2,71±0,18	0,14±0,14
Всего*	повторная	ЛПС	0,26±0,09	15,84±1,03	13,49±1,90	12,71±1,59	4,14±2,04	0,16±0,06
2	первичная	ЛПС	0,43±0,20	2,57±0,20	14,86±0,26	14,14±0,14	4,86±0,22	0,29±0,18
4	первичная	ЛПС	0,29±0,18	6,29±0,29	15,57±0,20	6,57±0,20	2,14±0,14	0±0
6	первичная	ЛПС	0,28±0,18	2,71±0,18	12,86±0,31	11,29±0,18	3,43±0,20	0,14±0,14
9	первичная	ЛПС	0,43±0,20	14,71±0,28	17,29±0,28	11,00±0,24	4,28±0,18	0,14±0,14
11	первичная	ЛПС	0,29±0,18	6,00±0,24	14,86±0,28	12,28±0,18	5,14±0,14	0,43±0,20
12	первичная	ЛПС	0,31±0,04	6,02±1,85	14,86±0,63	10,95±1,02	4,05±0,45	0,19±0,06
Всего*	первичная	ЛПС	0,31±0,04	6,02±1,85	14,86±0,63	10,95±1,02	4,05±0,45	0,19±0,06

Примечание: \* - средний титр для группы.

иммуногена (вакцины) [7-9]. Эффекторная стадия поствакцинального иммунитета характеризуется образованием антител, которые в большинстве своем и обеспечивают протективный эффект. Ранее в модельных опытах на животных с использованием ЖЧВ и герпетической вакцин, а также при обследовании больных, получавших лечебную герпетическую вакцину, было показано, что чем раньше появляются и быстрее исчезают ЛФР, тем интенсивнее антительный ответ на эти же антигены [5,7-9]. Как показало наше исследование ЛФР, специфичные к антигенам *Y. pestis*, не обнаружены у людей до введения ЖЧВ, независимо от того первый раз был человек вакцинирован или это была повторная вакцинация с интервалом не менее одного года. При этом у повторно вакцинированных ЛФР регистрировались не позднее второго дня, а у первично вакцинированных – на 2-4 день после вакцинации. К 20 дню ЛФР уже исчезали,

причем их содержание на 13-14 день после вакцинации в группе первично вакцинированных было уже большим, чем в группе повторно вакцинированных. Достоверное нарастание титра антител той же специфичности отмечено лишь на 7-9 день после вакцинации и максимум антительной активности отмечено через два месяца после вакцинации (срок наблюдения). Таким образом, ЛФР при повторной вакцинации появляются и исчезают раньше, чем при первичной, а антительный ответ при повторной вакцинации более интенсивный, особенно при выявлении антител к Ф1 антигену. Эти данные подтверждают ранее полученные в модельных опытах на животных о связи начальной и эффекторной стадий иммунного ответа на ЖЧВ.

**Выводы.**

1. ЛФР с рецепторами к Ф1 и ЛПС *Y. pestis* обнаружены у всех людей, первично и вторично

вакцинированных живой чумной вакциной.

2. Начальная стадия иммунного ответа была следующей: у первично вакцинированных ЖЧВ ЛФР с рецепторами обнаруживались со 2-4 дня, а у повторно вакцинированных – не позднее 2-го дня после вакцинации. До вакцинации и после 20-го дня после вакцинации ЛФР не выявлялись.

3. При повторной вакцинации людей ЖЧВ титры антител на антигены *Y. pestis*, особенно на Ф1, был существенно выше, чем при первичной вакцинации.

### **Литература:**

1. Атлас распространения особо опасных инфекций в Республике Казахстан./под ред. Л.А. Бурделова //Алматы, 2012. -232с.

2. Коробкова Е.И. Живая противочумная вакцина.- М.«Медгиз», 1956.- 207 с.

3. Inglesby T.V., Dennis D. T., Henderson D.A. et al. Plague as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense//JAMA.- 2000.- v.283.-p.2281–2290.

4. Willamson E., Flick-Smith Y. LeButt C., Human immune response to a plague vaccine comprising recombinant F1 and rV antigens.//Infect. Immun., 2005, 73: 3598-3608.

5. Б.В. Каральник, П.Н. Дерябин, Т.С. Пономарева, Т.Г.Денисова, Б.Б.Атиабар, Т.И. Тугамбаев, С.Б.Закарян/ Экспериментальный анализ влияния иммуномодуляции на эффективность живой чумной вакцины/ Волгоград

6. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Тугамбаев Т.И., Атиабар Б.Б., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние беталейкина на показатели антигенспецифического ответа в модельных опытах иммунизации животных живой чумной вакциной//Цитокины и воспаление.-С.-Петербург.-2014.- т.13.-№1.-с.57-62.

7. Karalnik B.V., Denisova T.G. Immunomodulation and stages of antigen specific response on herpes antigens//Medimond International Proceedings.-IV World asthma and COPD forum and XVI international congress on rehabilitation in medicine and immunorehabilitation.-2011.-.-p.231 – 235.

8. Каральник Б.В., Денисова Т.Г. «Иммуномодуляция как путь изучения иммунорегуляторных функций антигенсвязывающих лимфоцитов»// Аллергология и иммунология, 2011, т.12, № 1, с.54-55.

9. Omarova M.N., Karalnik B.V., Denisova T.G. et al. Influence of immunomodulation on the first stage of antigen specific response to herpes vaccine in experiment //Medical and Health Science Journal, Prague, 2011, v.8, p.21-26.