

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ ИЗ ШТАММА 55-ВНИИВВиМ В СОЧЕТАНИИ С ИММУНОМОДУЛЯТОРОМ «ИММУНОФАРМ»

Ласкавый В.Н.¹, Султанов А.А.³, Староверов С.А.^{1,2}, Горелов Ю.М.³, Абуталип А.А.³, Волков А.А.^{1,2}

¹) Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт», Российская Федерация, г. Саратов, e-mail: volkov-aleksei@yandex.ru

²) Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», Российская Федерация, г. Саратов

³) Товарищество с ограниченной ответственностью «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, г. Алматы

Проведено изучение иммуногенных свойств вакцины против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ в сочетании с иммуномодулятором «Имунофарм». Морских свинок иммунизировали вакциной из штамма 55-ВНИИВВиМ производства ТОО «Биоком» Республики Казахстан. Концентрация живых сибиреязвенных спор составляла 44 млн/мл (КОЕ). При постановке эксперимента животных делили на 10 групп: 5 опытных и 5 контрольных. Вакцину вводили подкожно в объёме 0,5 см³ - цельную и в разведениях – 1:3; 1:9; 1:27; 1:81. Через 40 минут животным 5 опытных групп вводили также подкожно иммуномодулирующее средство на основе солевого раствора муравьиного альдегида в малых концентрациях, изготовленное в соответствии со стандартом СТ ТОО 071240018450-11-2014. Установлено, что иммуногенность вакцины против сибирской язвы по сравнению с контрольными группами увеличилась на 44,3%. Введение иммуномодулирующего средства «Имунофарм» снизило реактогенность сибиреязвенной вакцины на 30%. Результаты исследования свидетельствуют о том, что применение иммуномодулирующего средства при вакцинации морских свинок живой против сибиреязвенной вакциной из штамма 55 ВНИИВВиМ способствует снижению реактогенности вакцины и стимулирует повышение иммунитета у опытных животных по сравнению с контрольными животными, привитыми только противосибиреязвенной вакциной.

Ключевые слова: вакцина, Имунофарм, иммуномодулятор, иммунитет.

THE STUDY OF IMMUNOGENIC QUALITIES OF THE ANTIANTHRAX VACCINE, STRAIN 55-VNIIVVIM, IN COMBINATION WITH IMMUNOMODULATOR “IMMUNOFARM”

Laskavuy V.N.¹, Sultanov A.A.³, Staroverov S.A.^{1,2}, Gorelov U. M.³, Abutalip A.A.³, Volkov A. A.^{1,2}

¹) Federal State Budgetary Scientific Institution Saratov Scientific and Research Veterinary Institute, Saratov, Russia, e-mail: volkov-aleksei@yandex.ru

²) Saratov State Agrarian University Named After N. I. Vavilov, Saratov

³) Kazakh Scientific Research Veterinary Institute, Republic Kazakhstan, Almaty

There has been conducted a study of immunogenic qualities of the antianthrax vaccine, strain 55-VNIIVVIM, in combination with immunomodulator “Immunofarm”. The guinea pigs were immunized with the vaccine, strain 55-VNIIVVIM, produced by LLC “Biokom”, Republic Kazakhstan. The concentration of live anthrax spores was 44 m/ml (KOE). The animal were divided into 10 groups for the experiment: there were five experimental and five control groups. The vaccine was injected subcutaneously of 0.5 cm³ – solid and reconstituted – 1:3; 1:9; 1:27; 1:81. In 40 minutes, the animals of the 5 experimental groups were subcutaneously injected the immunogenic drug based on a salt solution of formic aldehyde of low concentration produced according to the standard ST LLC 071240018450-11-2014. The results show that immunogenic qualities of the antianthrax vaccine, comparing with the control, groups have increased up to 44.3%. The use of the immunomodulator “Immunofarm” decreased reactogenicity of the antianthrax vaccine to 30%. Thus, the research results demonstrate that the use of the immunomodulator and antianthrax vaccine, strain 55-VNIIVVIM, on guinea pigs decreases reactogenicity of the vaccine and stimulates immunity systems of animals in the experimental groups comparing with those in the control groups which were immunized with the antianthrax vaccine only.

Keywords: vaccine, immunomodulator, “immunofarm”, immunity.

Bacillus anthracis (*B. anthracis*), является возбудителем сибирской язвы, это грамположительная спорообразующая палочка, которая обычно встречается в почве эндемических районов. Сибирская язва – зоонозное заболевание, и чаще всего встречается в странах, где не проводится повсеместная вакцинация животных.

Bacillus anthracis может вызывать заражение людей через кожу, желудочно-кишечный тракт и органы дыхания [5]. *B. anthracis* существует в двух формах – вегетативных клетках и в споровой форме [10]. В почве, *B. anthracis* обычно находится в эндоспоровой форме, оставаясь жизнеспособной в течение многих десятилетий [7]. Из-за высоко патогенного характера и возможности спорообразования, *B. anthracis* считается особо опасной инфекционной болезнью и относится к IV группе патогенности [8,3].

Сибиреязвенные бактерии вне организма при доступе кислорода образуют споры, вследствие чего обладают большой устойчивостью к высокой температуре, высушиванию и дезинфицирующим веществам [4,6]. Факторами патогенности *B. anthracis* являются: образование капсулы, обладающей антифагоцитарной активностью и адгезивными свойствами; образование термолabileного трёхкомпонентного экзотоксина, состоящего из трёх компонентов — эдематозного компонента (вызывает воспаления, отёки), защитного протективного антигена (не обладает токсичностью) и летального компонента [9,12,11].

Важное значение в профилактике данного заболевания имеет вакцинация. Однако даже при сочетании всех имеющихся методов профилактики достаточно часто регистрируются случаи сибирской язвой заражения людей и животных. Это свидетельствует о том, что методы профилактики данного заболевания остаются еще не достаточно совершенными. Наиболее перспективными способами повышения иммуногенности вакцин является применение наночастиц в качестве носителей антигенов, а так же иммунизация в сочетании с иммуномодуляторами [1,2].

Поскольку вакцинные препараты на основе антигенов конъюгированных с наночастицами на сегодняшний день находятся лишь в стадии конструирования, то целью наших исследований являлась разработка доступного и эффективного способа повышения иммуногенности и снижения реактогенности сибиреязвенной вакцины, путем её сочетанного применения с иммуномодулятором «Иммунофарм».

Материалы и методы

Научные исследования выполнялись в отделе зоо- и зооантропонозных инфекций ФГБНУ «Саратовского НИВИ» (Россия) и ТОО «Казахском научно-исследовательском ветеринарном институте» (Республика Казахстан) с использованием клинических, и иммунологических методов исследований по оценке иммуногенности при сибирской язве в соответствии с нормативными документами (паспорт №3 от 24 мая 2001 РГКП «Казахского

НИВИ» НАЦАИ МО и Н РК; Технические условия СТ ТОО 39439226-08-2006 «Вакцина против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ).

Морских свинок иммунизировали вакциной из штамма 55 ВНИИВВиМ производства ТОО «Биоком» Республики Казахстан (серия 18, изг.09.2010 по Техническим условиям СТ ТОО 39439226-08-2006). Концентрация живых сибирезвенных спор составляла 44 млн/мл (КОЕ).

При постановке эксперимента животных делили на 10 групп: 5 опытных и 5 контрольных (по 7-10 голов в каждой).

Вакцину вводили подкожно в объёме 0,5 см³ – цельную и в разведениях – 1:3; 1:9; 1:27; 1:81.

Через 40 минут животным 5 опытных групп вводили также подкожно иммуномодулирующее средство на основе солевого раствора муравьиного альдегида в малых концентрациях, изготовленное в соответствии со стандартом СТ ТОО 071240018450-11-2014 Иммуномодулятор «Иммунофарм», утверждённым ГУ «Комитета ветеринарного контроля и надзора» МСХ РК 15.04.2014 г.

Для объективной оценки данных животным других 5 групп, которых считали контрольными, вводили только вакцину (т.е. без иммуномодулятора).

Дополнительно была сформирована контрольная группа животных из 6 морских свинок, которых не вакцинировали.

Для заражения использовали по 6 голов из каждой опытной группы (которым вводили вакцину с иммуномодулятором) и каждой контрольной группы животных (которым вводили только вакцину), а также 6 голов контрольной группы морских свинок, которых ничем не вакцинировали. Заражение опытных и контрольных животных проводили через 12 суток сибирезвенной реферанс-заражающей культурой штамма второй вакцины Ценковского М №71, 71/12 (в соответствии с Техническими условиями СТ ТОО 39439226-08-2006 «Вакцина против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИВВиМ. Жидкая»).

Результаты

Полученные нами результаты представлены в таблице. Из таблицы следует, что ΣLi для опытных групп составляет 2,15, а для контрольных – 1,49. Значение иммунизирующей дозы для опытных групп составило ИМ $D_{50} = 0,340$ млн. спор, а для контрольных – ИМ $D_{50} = 1$ млн. спор.

Из данных, представленных в таблице видно, что вакцинация морских свинок живой противосибирезвенной вакциной из штамма 55 ВНИИВВиМ и последующее введение иммуномодулирующего средства безвредно для животных (нет гибели морских свинок после

вакцинации) и обуславливает формирование напряженного иммунитета (ИМ $D_{50} = 0,34$ млн. спор).

Введение морским свинкам цельной вакцины против сибирской язвы вызвало гибель 3 животных после вакцинации (во второй группе), что говорит о достаточно высокой реактогенности вакцины.

Оценка иммуногенности живой вакцины против сибирской язвы

№ группы	Характеристика группы	Концентрация живых спор вакцины (млн. спор/0,5 см ³)	Кол-во привитых жив-х	Кол-во животных, заражённых вирулентной культурой (гол.)	Выжило (голов)	Иммуногенность Li
1.	Опытная: Вакцина (цельная) + Иммуномодулятор	22,0	10	6	5	0,83
2.	Контрольная: Вакцина (цельная)	- «» -	10	6	4	0,66
3.	Опытная: Вакцина (развед. 1:3) + Иммуномодулятор	7,3	7	6	4	0,66
4.	Контрольная: Вакцина (развед. 1:3)	- «» -	7	6	3	0,50
5.	Опытная: Вакцина (развед. 1:9) + Иммуномодулятор	2,4	7	6	3	0,50
6.	Контрольная: Вакцина (развед. 1:9)	- «» -	7	6	2	0,33
7.	Опытная: Вакцина (развед. 1:27) + Иммуномодулятор	0,81	7	6	1	0,16
8.	Контрольная: Вакцина (развед. 1:27)	- «» -	7	6	нет	-
9.	Опытная: Вакцина (развед. 1:81) + Иммуномодулятор	0,27	7	6	нет	-
10.	Контрольная: Вакцина (развед. 1:81)	- «» -	7	6	нет	-

11.	Контрольная: Без вакцины иммуномодулятора	и	-	6	нет	-
ИТОГО:			38 оп. 38 контр.	30 оп. 30 контр. 6 контр. (без вакцин)	13 оп. 9 контр. нет	$\Sigma Li=$ 2,15 оп. 1,49 контр.

Количество выживших животных, вакцинированных с применением иммуномодулирующего средства, составляет 13 голов, а животных, вакцинированных без него – 9. При этом, количество павших животных в первом случае (с иммуномодулирующим средством) составило 17 голов, а во втором (без иммуномодулирующего средства) – 21.

Процент выживших животных в группах составил:

- в опытных группах (где из 30 голов выжило 13) – 43,3%;
- в контрольных группах (где из 30 голов выжило 9) – 30,0%.

Таким образом, иммуногенность вакцины против сибирской язвы по сравнению с контрольными группами увеличилась на 44,3% $[(43,3-30):30\%]$.

Кроме того, установлено, что введение иммуномодулирующего средства значительно снизило реактогенность сибиреязвенной вакцины (на 30%), поскольку из 10 контрольных животных второй группы (до заражения) пало всего 3 головы. При этом, в пяти опытных группах (№ 1, 3, 5, 7, 9) у животных отечность на месте введения вакцины была незначительной (1 x 2 см) и исчезала на 2-3 сутки, тогда как у свинок контрольных групп (№ 2, 4, 6, 8, 10) она составляла от 2 x 5 см и сохранялась до 5-6 суток.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение иммуномодулирующего средства при вакцинации морских свинок живой против сибиреязвенной вакциной из штамма 55 ВНИИВВиМ способствует снижению реактогенности вакцины и стимулирует повышение иммунитета у опытных животных на 30-40% по сравнению с контрольными животными, привитыми только противосибиреязвенной вакциной.

Список литературы

1. Исаева А.Ю., Староверов С.А., Волков А.А., Субботин А.М., Козлов С.В. Уточнение некоторых биодинамических параметров комплекса коллоидного селена конъюгированного с лактоферрином *in vitro* // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". 2012. Т. 48. № 2-2. С. 223-225.

2. Меженный П.В., Староверов С.А., Волков А.А., Козлов С.В., Ласкавый В.Н., Дыкман Л.А., Исаева А.Ю. Конструирование конъюгатов коллоидного селена и коллоидного золота с белком вируса гриппа и изучение их иммуногенных свойств // Аграрный научный журнал. 2013. № 2. С. 29-32.
3. Atlas R.M. Bioterrorism: from threat to reality. // *Annu Rev Microbiol* 2002; 56: 167-185 [PMID: 12142472 DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160616]
4. Collier R.J., Young, J.A. Anthrax toxin. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; 19: 45-70 [PMID: 14570563 DOI: 10.1146/annurev.cellbio.19.111301.140655]
5. Dixon, T.C., Meselson, M., Guillemin, J., Hanna, P.C. Anthrax. // *N Engl J Med* 1999; 341: 815-826 [PMID: 10477781 DOI: 10.1056/NEJM199909093411107]
6. Ezzell J.W., Welkos S.L. The capsule of bacillus anthracis, a review *J Appl Microbiol* 1999; 87: 250 [PMID: 10475959 DOI: 10.1046/j.1365-2672.1999.00881.x]
7. Jernigan J.A., Stephens D.S., Ashford D.A., Omenaca C., Topiel M.S., Galbraith M., Tapper M., Fisk T.L., Zaki S., Popovic T., Meyer R.F., Quinn C.P., Harper S.A., Fridkin S.K., Sejvar J.J., Shepard C.W., McConnell M., Guarner J., Shieh W.J., Malecki J.M., Gerberding J.L., Hughes J.M., Perkins B.A. Bioterrorism-related inhalational anthrax: the first 10 cases reported in the United States. // *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 933-944 [PMID: 11747719 DOI: 10.3201/eid0706.010604]
8. Kamboj D.V., Goel A.K., Singh L. Biological Warfare Agents. // *Defence Sci J* 2006; 56: 495-506
9. Mock M., Mignot T. Anthrax toxins and the host: a story of intimacy. *Cell Microbiol* 2003; 5: 15-23 [PMID: 12542467 DOI: 10.1046/j.1462-5822.2003.00253.x]
10. Santelli E., Bankston L.A., Leppla S.H., Liddington R.C. Crystal structure of a complex between anthrax toxin and its host cell receptor. // *Nature* 2004; 430: 905-908 [PMID: 15243628 DOI: 10.1038/nature02763]
11. Singh Y., Klimpel K.R., Goel S., Swain P.K., Leppla S.H. Oligo-merization of anthrax toxin protective antigen and binding of lethal factor during endocytic uptake into mammalian cells. *Infect Immun* 1999; 67: 1853-1859 [PMID: 10085027]
12. Turk B.E. Manipulation of host signalling pathways by anthrax toxins. *Biochem J* 2007; 402: 405-417 [PMID: 17313374 DOI: 10.1042/BJ20061891]

Рецензенты:

Калюжный И.И., д.вет.н., профессор, кафедра болезней животных и ВСЭ ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова, г. Саратов;

Кривенко Д.В., д.вет.н., профессор, кафедра болезней животных и ВСЭ ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова, г. Саратов.