

УДК 616:612.017.1

**У.А. ИЗБАНОВА, Т.Н. КУНИЦА, Л.Ю. ЛУХНОВА**

Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева  
 Комитета по защите прав потребителей Министерства национальной экономики  
 Республики Казахстан, г. Алматы

## ДОСТИЖЕНИЯ В ОБЛАСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ТУЛЯРЕМИИ



Избанова У.А.

В Казахстане основу профилактики туляремии составляет вакцинация уязвимых контингентов населения живой туляремийной вакциной №15 линии НИИЭГ (Россия). Снижение уровня противотуляремийных мероприятий неизбежно приводит к тяжелым эпидемиологическим осложнениям, что может изменить эпидемиологическую ситуацию в сторону проявления не спорадической, а массовой заболеваемости людей.

**Целью исследования** являются обзор и анализ научных исследований в области разработок туляремийной вакцины.

**Материал и методы.** Сбор и анализ материалов проводился в электронных библиотеках, использованы печатные и электронные материалы электронных информационных ресурсов: Web of Knowledge, Scopus, Springer.

**Результаты и обсуждение.** Представлены анализ эффективности вакцинопрофилактики против туляремии в Казахстане и обзор научных исследований в области разработок туляремийной вакцины, определены тенденции развития науки в этой области медицины.

**Выводы.** В настоящее время остается актуальной разработка вакцин нового поколения (как живых, так и молекулярных). Для проведения массовой, а при необходимости и экстренной иммунизации населения необходимы не только высокоиммуногенные, но и безопасные лицензированные профилактические препараты.

**Ключевые слова:** туляремия, иммунопрофилактика, вакцина, химическая вакцина, ДНК-вакцины.

Ярким доказательством актуальности исследований в области конструирования вакцины против туляремии является информация о том, что США MRIGlobal 13 июля 2016 г. объявил о выделении гранта на сумму \$6,2 миллиона для проведения международных исследований по 5-летней программе Агентства США по сокращению военной угрозы (DTRA) для продолжения разработок по созданию вакцины, защищающей от заражения возбудителем туляремии *Ft.tularensis nearctica* [1]. Незадолго до этого объявления появилась публикация Raju Sunagar с соавт. [2], которая в статье «Tularemia vaccine development: paralysis or progress?» подробно рассказывает о трудностях и успехах в создании вакцины против туляремии, вызванной возбудителем туляремии типа А. *Francisella tularensis* (Ft) типа А является грамтрицательным внутриклеточным патогеном и входит в список «А» высокопатогенных потенциальных биотеррористических агентов. Ft тип А является наиболее вирулентным и циркулирует только в Северной Америке. После биотеррористических событий 2001 года в США были усилены разработки по созданию вакцины против возбудителя туляремии типа А *Francisella tularensis nearctica*. Несмотря на 15 лет значительных государственных инвестиций и интенсивных исследований, направленных на разработку Ft вакцины против

туляремии, которая была бы утверждена Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, задача остается невыполненной. Возникает вопрос: возможно ли создание такой вакцины? В результате чего возникло ощущение паралича в области разработки противотуляремийной вакцины? В этом плане авторы считают, что практические врачи должны обладать широким спектром инструментов в области специфической профилактики туляремии: в случае проведения антитеррористических мероприятий необходимо будет использовать антибиотикоустойчивые вакцинные штаммы и химические вакцины, дающие возможность проводить профилактическое лечение. Если необходимо вакцинировать контингент, постоянно находящийся в зоне активных природных очагов, необходимо использовать вакцины, обеспечивающие длительный иммунитет, а в случае кратковременного нахождения достаточно введения вакцины, обеспечивающей кратковременный напряженный иммунитет.

В этой статье рассматриваются усилия исследований, направленных на разработку Ft вакцины, а также ряд недавно установленных важных факторов, которые могут оказать существенное влияние на эффективность противотуляремийной Ft вакцины.

Туляремия – природно-очаговая зоонозная инфекция с

**Контакты:** Избанова Уйкуль Айтеновна, канд. мед. наук, заведующая лабораторией зоонозных бактериальных инфекции Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева, г. Алматы. Тел.: + 7 701 651 6437, +7 (727) 2233829, e-mail: uizbanova@kscqzd.kz, uizbanova@gmail.com

**Contacts:** Uinkul Aytenovna Izbanova, MD, PhD, Head of the Laboratory of zoonotic bacterial infection of the Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases them. M. Aykimbaeva, Almaty c. Ph.: + 7 701 651 6437, +7 (727) 2233829, e-mail: uizbanova@kscqzd.kz, uizbanova@gmail.com

множенностью носителей, переносчиков и механизмов передачи инфекции. Активные природные очаги туляремии сформировались в таких странах мира, как Австрия, Франция, Германия, Швеция, Япония, Италия, в странах Северной Америки, в странах СНГ, в том числе в Казахстане.

Территория Казахстана характеризуется разнообразием природных условий. В пределах республики можно выделить ряд ландшафтов, важных в эпидемиологическом отношении: поймы рек, побережья водоемов, тугаи, участки культурного ландшафта. Природные очаги туляремии обычно приурочены к определенным ландшафтно-географическим зонам. Это объясняется сочетанием естественных и экономических факторов: наличием тех или иных видов грызунов – резервуаров и источников возбудителя туляремии, своеобразием хозяйственной деятельности человека и условиями контакта людей с источниками инфекции. В Казахстане зарегистрированы природные очаги туляремии четырех типов из семи существующих, а именно – очаги предгорно-ручьевого, пойменно-болотного, тугайного и степного типов на территории 12 областей республики (кроме Южно-Казахстанской и Мангыстауской) [3, 4].

В настоящее время основу специфической профилактики туляремии составляет вакцинация угрожаемых контингентов населения живой противотуляремийной вакциной №15 линии НИИЭГ (Россия, вакцина Гайского). Согласно приказу Министерства национальной экономики Республики Казахстан от 25 февраля 2015 года №136 СП «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по предупреждению особо опасных инфекционных заболеваний» территориальные подразделения ведомства государственного органа в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия населения (на текущий момент – областные департаменты по защите прав потребителей) определяют необходимость и объемы проведения профилактической вакцинации населения против туляремии [5]. Планирование и отбор контингентов, подлежащих вакцинации, осуществляются дифференцированно, с учетом степени эпидемической активности природных очагов. Специфическую профилактику – вакцинацию людей против туляремии осуществляют местные исполнительные органы государственного управления здравоохранением в соответствии с постановлением Правительства РК №2295 от 30 декабря 2009 года «Об утверждении перечня заболеваний, против которых проводятся профилактические прививки» с учетом постановления Правительства РК №119 от 12 февраля 2013 года об изменениях и дополнениях в правила их проведения и групп населения, подлежащих плановым прививкам [6].

Плановую вакцинацию проводят в природных очагах пойменно-болотного, предгорно-ручьевого типов в «зоне постоянной резервации возбудителя», вакцинируют все население, за исключением детей до 7 лет, лиц старше 55 лет и лиц, имеющих противопоказания в соответствии с прилагаемой к вакцине инструкцией по применению. В остальных случаях плановую или заблаговременную вакцинацию проводят после заключения специалистов областных департаментов по защите прав потребителей [5, 6].

В природных очагах тугайного, степного типов и на территории зон риска, выноса и благополучия вакцинируют лиц, входящих в группы риска: охотников, рыбаков, членов их семей, пастухов, полеводов, мелиораторов, а также лиц, работающих сезонно или вахтовым методом. Ревакцинация населения проводится каждые 5 лет.

Иммунный статус населения на туляремию определяется путем выборочной проверки взрослого работоспособного населения с помощью кожной пробы с тулярином или серологических методов не реже одного раза в 5 лет. Общее число проверяемых людей в конкретном административном районе должно составлять не менее 1% к общему числу проживающих или не менее 10% от числа вакцинированных.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Сбор и анализ материалов проводились в библиотечных фондах и электронных библиотеках, использованы печатные и электронные материалы электронных информационных ресурсов: *Web of Knowledge, Scopus, Springer, e.library.ru*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Доказательством эффективности специфической профилактики является многократное снижение заболеваемости туляремией в Казахстане. До 1947 года в Казахстане вакцинация населения проводилась только по эпидемическим показаниям. Плановая вакцинация населения живой

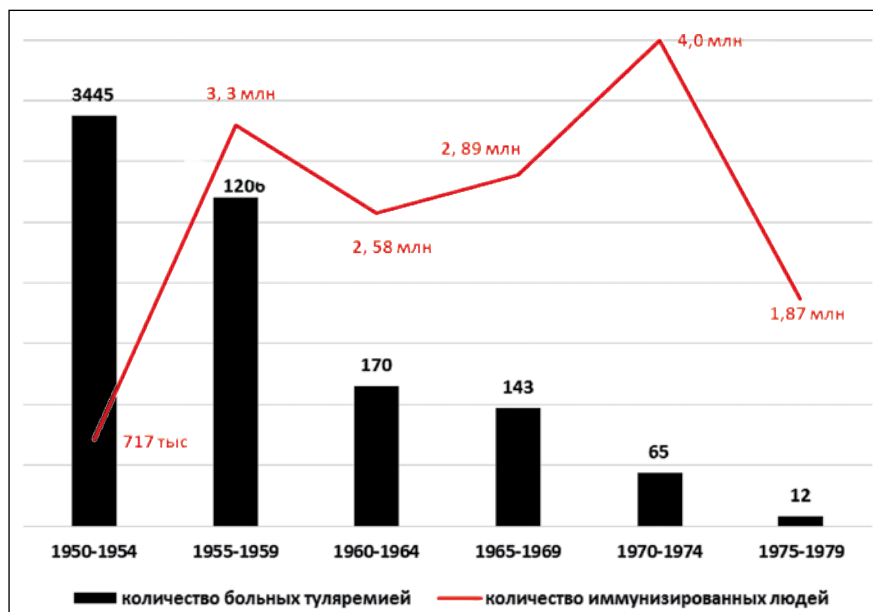


Рисунок 1 – Количество больных людей туляремией и число вакцинированных в Казахстане, 1950 – 1979 гг.

туляремийной вакциной в Казахстане была начата в 1947 году, а в 1977 году число людей, охваченных вакцинацией и ревакцинацией, составило более 5 млн. человек. К началу 80-х годов XX столетия заболеваемость людей по сравнению с 50-ми годами снизилась более чем в 450 раз и проявлялась спорадическими случаями (рис. 1) [3].

Рост количества больных туляремией в период массовой иммунизации в Казахстане в 1954 году до 2218 человек, а в 1958 году до 431 больного был связан с прибытием значительного количества людей из благополучных по туляремии регионов. Эти люди не были привиты против туляремии, что обусловило вспышку заболевания среди них. Аналогичная картина была отмечена в Семипалатинской (ныне Восточно-Казахстанской) области. Прибывшие на уборку урожая городские жители не были вакцинированы, и при контакте с инфицированной водой одновременно заболели туляремией 40 человек. Единичные случаи заболевания среди привитых, зарегистрированные Б.Я. Эльбертом с соавт. (1946) и др., выявлялись в первые две недели после прививки, когда еще не был сформирован напряженный иммунитет, а также среди лиц, у которых после вакцинации не было кожной прививочной реакции [3]. В 2002 году в Восточно-Казахстанской области из 13 больных 5 человек были вакцинированы от 2 до 4,5 года до заболевания [7], что, скорее всего, с недостаточным постпрививочным контролем. Таким образом, успех прививочной кампании достигается не только созданием высокой иммунной прослойки среди населения, проживающего в очаговой зоне, но и обязательной вакцинацией всех лиц, приезжающих в неблагополучные по туляремии районы, а также последующим контролем эффективности вакцинации.

Массовая вакцинация населения СССР против туляремии, масштабные неспецифические профилактические мероприятия, агротехнические и другие хозяйственные мероприятия в очагах туляремии, проведенные в 70-80-е годы XX столетия, позволили удерживать на относительно низком уровне эпидемические проявления туляремии [8, 9]. В 90-е годы XX столетия в результате распада союзной системы эпидемиологического надзора произошло резкое снижение объемов профилактических мероприятий. Был сокращен эпизоотологический мониторинг над природ-

ными очагами туляремии. Увеличение риска заражения туляремией в природных очагах туляремии было связано с ослаблением дератизационно-дезинсекционной обработки в населенных пунктах. В Казахстане образовался более чем десятилетний период, когда вакцинацию населения проводили в недостаточном объеме [10]. За период 1991 – 2000 годы было вакцинировано против туляремии 583,7 тысячи людей, то есть в среднем прививалось ежегодно только 58,3 тысячи человек, а на территории отдельных очагов туляремии вакцинация населения не проводилась на протяжении нескольких лет. Для сравнения, только в 1977 году в Казахстане было вакцинировано более 847,0 тысячи человек.

Активизация эпизоотических процессов, охватывающих значительные территории республики, в условиях ослабления уровня проводимых профилактических мероприятий привели к увеличению количества инфицированных туляремией, в основном, в очагах туляремии предгорно-ручьевого типа (табл. 1) [11].

Впервые за 19 лет в 2003 году в Актюбинской области были выявлены 3 больных туляремией, а в 2007 году – еще 1 больной. В 2002 году вакцинация в Актюбинской области не проводилась. Низкий охват вакцинации объясняется отсутствием поставок туляремийной вакцины. Таким образом, резкое снижение профилактической вакцинации изменяет эпидемиологическую ситуацию в сторону проявления спорадической, а в некоторых случаях массовой заболеваемости людей.

С 1991 по 2004 годы в Алматинской области были выявлены 15 больных туляремией. В Северо-Казахстанской области план вакцинации выполнен ниже, чем на 50%, что отразилось повышением заболеваемости туляремией, и в 1991–2008 гг. были зарегистрированы 13 больных. В 2008 г. проводилось изучение иммунного статуса населения в 14 районах Алматинской области, поставлено 4898 туляриновых проб, с положительным результатом 4698 (96%).

С 2004 г. в Казахстане количество иммунизированных против туляремии людей увеличивается, ежегодно в среднем вакцинируется 108,07 тысячи человек. В целом, по республике выявлено 29 больных туляремией за 12-летний период (2004– 2015 гг.), в то время как только за предыдущие 4 года (2000 – 2003 гг.) – 36 больных.

Таблица 1 – Вакцинация населения против туляремии с 1991 по 2000 годы, количество заболевших людей в 1991–2014 годы

Название области	Вакцинация 1991–2000 гг.		Ревакцинация 1991–2000 гг.		Количество заболевших людей*	
	план	выполнение в %	план	выполнение в %	1991–2000 гг.	2001–2014 гг.
Акмолинская и г. Астана	21934	83,0	14403	84,2	8	5
Актюбинская	16677	72,0	1270	21,2	-	4
Алматинская	11704	83,9	1870	51,6	11	4
ВКО	66121	42,8	4985	85,2	1	42
ЗКО	36270	94,5	13300	74,2	-	2
Костанайская	17492	95,9	8492	89,7	3	0
Карагандинская	39660	97,7	2330	86,4	1	0
Павлодарская	42655	90,7	17784	46,3	1	0
СКО	3350	45,9	8000	46,8	6	7
<b>В целом по Казахстану</b>	<b>583723</b>	<b>87,7</b>	<b>80634</b>	<b>69,5</b>	<b>31</b>	<b>64</b>

\*Примечание – 2008-2010, 2013, 2015 гг. больных туляремией не было.

Снижение объемов профилактических мероприятий оказало влияние на обострение эпидемической обстановки в Восточно-Казахстанской области. Более 60% больных зарегистрированы в Восточно-Казахстанской области в 2002 – 2006 гг., где наблюдалась активизация предгорно-ручьевых очагов туляремии. За 10 лет (с 1991 по 2000 гг.) был выявлен 1 больной туляремией, а с 2002 по 2011 годы – 39 больных. В 2005 – 2007 годы было проверено состояние иммунной прослойки населения Восточно-Казахстанской области с использованием назоальной туляриновой пробы. С положительной туляриновой пробой выявлено 51,7%; 32,8%; 76,5% из числа привитых людей соответственно. Все неиммунные лица были повторно привиты против туляремии.

Плановая вакцинация живой вакцины *F. tularensis* 15 НИИЭГ, начатая в 1947 году, привела к формированию высокоиммунной прослойки среди населения, проживающего на территории природных очагов туляремии в Казахстане, предотвратила распространение особо опасной инфекции, несмотря на высокий эпидемический потенциал очагов туляремии.

#### Разработка вакцин

По современной классификации различают живые, убитые (инактивированные), химические и рекомбинантные вакцины.

#### Живые вакцины, изготовленные на основе аттенуированных штаммов туляремийного микроба

На настоящий момент известны два вакцинных штамма: в России – применяемый в настоящее время вакцинный штамм *F. tularensis* 15 НИИЭГ, в США и странах Западной Европы – штамм *F. tularensis* LVS, вакцинация которыми приводит к формированию напряженного иммунитета против туляремии. Штамм *F. tularensis* LVS (Live Vaccine Strain) был отобран в США из изолированных колоний при рассеивании лиофильно высушенных бактерий *F. tularensis* штаммов 15 и 155, переданных из СССР [12, 13, 14].

В 1940х годах Н.А. Гайский получил штамм *F. tularensis* 15, обладающий высокой иммуногенностью [15]. Для поддержания иммуногенных свойств штамма проводили пассирование штамма через биопробных животных (1950, 1960, 2003 годы). В настоящее время восстановленный по иммуногенности штамм получил название *F. tularensis* 15 НИИЭГ [16, 17]. Н.А. Гайский придавал особое значение «остаточной» вирулентности вакцинных штаммов, считая, что иммуногенным является тот вакцинный штамм, который сохранил «остаточную вирулентность» для белых мышей, но остался безвредным для морских свинок и человека [18].

Шмутер М.Ф., ведущий ученый Среднеазиатского научно-исследовательского противочумного института, разработчик многих иммуно-биологических диагностических и вакцинных препаратов, определяя эффективность вакцинации против туляремии в Казахстане в 1953 г., отметил реактогенность вакцины и осложнения, проявляющиеся в повышении температуры и увеличении подмышечных лимфоузлов в 34% случаев [19].

Возбудитель туляремийной инфекции *Francisella tularensis* (Mc Coyet Chapin, 1912) является внутриклеточным паразитом и способен размножаться в широком спектре эукариотических клеток [20]. Для защиты от заражения вы-

соковирулентными штаммами *F. tularensis* необходимо формирование специфического пула иммунных Т-лимфоцитов памяти. Использование живых вакцин, сконструированных на основе аттенуированных штаммов, обеспечивает индукцию полноценного иммунного ответа не только против одного-двух иммунодоминантных, но против целого спектра сложных (комплекс белка с ЛПС и т.п.) и минорных антигенов, способного защитить макроорганизм от патогенных бактерий даже с частично измененной антигенной специфичностью.

Вопрос специфической профилактики туляремии, поиск новых вариантов туляремийного микроба для использования в качестве вакцин остается по-прежнему актуальным. Применяемая в Казахстане в настоящее время для вакцинации людей живая сухая туляремийная вакцина голарктического подвида по своей активности, напряженности и длительности создаваемого иммунитета превосходит все другие вакцины, однако, она реактогенна и малоэффективна при воздушно-капельном (воздушно-пылевым) пути заражения. Отмечено также, что штамм *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ может диссоциировать на колонии, которые обладают различной протективной способностью [21].

В 2002 г. впервые был получен вакцинный штамм из штамма среднеазиатского подвида (*Francisella tularensis mediaasiatica* Aikimb., 1966) А.М. Айкимбаевым с соавторами решением Комитета по правам интеллектуальной собственности РК от 14.04.2006 г. №12-2/2151 согласно заявке НИИС №2002/0952.1 получен патент №12742 «Штамм бактерии *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, аттенуированный, используемый для приготовления вакцины», перспективный для создания туляремийной вакцины [22]. Для проведения экспериментов по аттенуации был взят в опыт штамм туляремийного микроба *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, выделенный в условиях полевого туляремийного отряда О.Б. Чмировым в 1982 году от клещей *D. daghestanicus*. Аттенуацию проводили многократным пассированием микробной взвеси на специальных жидких и твердых средах, отбором SR-вариантов колоний и воздействием на возбудителя иммунной сывороткой по методике Н.А. Гайского [18, 19, 23, 24]. LD<sub>50</sub> аттенуированного штамма туляремийного микроба 240 для белых мышей составляет 2512 м.к., биопробы гибнут в 35% случаев; морские свинки не погибают от доз в 500 млн.-1 млрд. м.к. В 65%-70% случаев животные остались живы после введения им туляремийного микроба №240. Все биопробы, оставшиеся в живых после иммунизации аттенуированным штаммом 240, не погибли от введения им высоковирулентного штамма среднеазиатского подвида №253 в дозе 1000 м.к. Стабильность аттенуированного штамма №240 через три года после аттенуации была доказана введением белым мышам и морским свинкам 16-кратного пассированного штамма №240. Патологоанатомическая картина у животных, зараженных штаммом *Francisella tularensis mediaasiatica* 240 аттенуированный, характеризовалась незначительными изменениями во внутренних органах. На основании результатов экспериментов, подтверждающих наличие у штамма требуемых свойств, штамм был депонирован в музее живых культур Казахского научно-исследовательского противочумного института, с присвоением номера КА-29.

Т.Н. Куница (КНЦКЗИ) в 2012 г. получен инновационный патент РК на «Штамм бактерий *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, rif-R, аттенуированный, рифампицин устойчивый, высокоиммуногенный, используемый для приготовления вакцины» [25]. Устойчивость рифампицину является не только генетической меткой штамма, но и дает возможность проводить вакцинацию этим штаммом одновременно с назначением профилактического лечения вакцинированному лицу, что необходимо проводить при лабораторном заражении или в случае биотерроризма. Штамм *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, rif-R является авирулентным, остаточная вирулентность штамма LD<sub>50</sub> для мышей при подкожном введении равна 100000 м.к. Обладает полным набором антигенов, выявляется в концентрации 6,3x10<sup>5</sup> м.к. в РНГА с иммуноглобулиновым туляреминым эритроцитарным диагностикумом. Штамм стабилен по основным биологическим признакам, генетически маркирован и охарактеризован. Штамм иммуногенный, обладает протективной активностью, иммунизированные морские свинки не погибают при подкожном заражении 1000 смертельных доз вирулентного штамма.

Мещерякова И.С. с соавт. в 2006 г. зарегистрировали патент на изобретение 1839960 [26] «Штамм бактерий *Francisella tularensis* для приготовления живой вакцины против туляреминой инфекции», аттенуирован, обладает антигенной активностью, остаточной вирулентностью для белых мышей, иммуногенностью для белых мышей и домашних кроликов, безопасен (безвреден), стабилен по основным биологическим признакам, генетически маркирован и охарактеризован, обладает протективной активностью при заражении вирулентными штаммами неарктического подвида.

В 2007 г. Кисличкиным Н.Н. и Кисличкиной О.И. (Россия) разработана новая живая туляреминая вакцина на основе штамма *F. tularensis* Nik-sp. Вакцинный штамм получен путем селекции из чистой линии бактерий R-формы штамма 15 НИИЭГ *Francisella tularensis*. От вакцины из штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ ее отличает способность формировать более длительный иммунитет, стабильность популяции, низкая остаточная вирулентность и технологичность производства. Предложено применение этой вакцины не только для здравоохранения в качестве живой туляреминой вакцины взамен существующей *F. tularensis* 15 НИИЭГ или сохранение её как вакцины резерва [27].

На настоящее время кандидаты в вакцины практического применения не получили. Живая вакцина из аттенуированного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ остается единственной лицензированной вакциной, которую с 1943 г. и до сегодняшнего дня используют для иммунопрофилактики туляремии на территории России и стран СНГ.

#### **Вакцины, изготовленные из убитых штаммов туляреминого микроба**

К основным причинам замены традиционных вакцин на химические препараты относится необходимость создания безопасных вакцин, менее реактогенных и одновременно эффективных вакцин. Наиболее безопасными являются убитые корпускулярные вакцины, содержащие полный спектр бактериальных антигенов. Корпускулярные вакцины представляют собой бактерии, инактивированные химиче-

скими, физическими или обоими факторами вместе. Для их приготовления могут быть использованы вирулентные или аттенуированные штаммы микроорганизмов, обладающие полным набором необходимых антигенов. Инактивация бактерий проводится путем нагревания, обработкой формалином, ацетоном, спиртом, которые обеспечивают надежное обезвреживание и минимальное повреждение структуры антигенов. Высушивание вакцин обеспечивает высокую стабильность препаратов и снижает концентрацию некоторых примесей (формалин, фенол). Убитые вакцины являются более стабильными и безопасными по сравнению с живыми. К недостаткам инактивированных вакцин следует отнести более низкую иммуногенность, по сравнению с живыми вакцинами, так как инактивация штаммов приводит к повреждению структуры некоторых антигенов. Для повышения иммуногенности убитых вакцин требуются повторные введения, применение их в сочетании с адьювантами либо их введение в мельчайших капсулах, которые, медленно рассасываясь, способствуют депонированию и пролонгированию действия вакцины [13, 28]. Ввиду недостаточности высокой иммуногенности и повышенной реактогенности инактивированные вакцины не нашли широкого применения.

#### **Химические вакцины, адьювантные**

Исследования, направленные на создание высокоиммуногенных и в то же время безопасных вакцин, привели к конструированию химических вакцин [29, 30]. Основным принципом получения химических вакцин является выделение протективных антигенов, которые должны были обеспечить развитие надежного иммунитета. Для усиления иммуногенного действия таких вакцин применяли адьюванты – вещества, которые неспецифически усиливали иммунный ответ организма на введенные антигены. Химические вакцины являются менее реактогенными, их можно вводить в больших дозах и многократно. Группой российских ученых под руководством В. Жемчугова была разработана химическая противотуляреминая вакцина [30]. При создании вакцины были учтены данные о существенной роли компонентного состава питательных сред и условий культивирования туляреминого микроба на синтез поверхностных антигенных структур, обладающих протективной активностью. К этим структурам относятся белковые компоненты туляреминого микроба, липополисахаридная часть и, что очень важно, – гликопротеидный «С»-комплекс. Вакцина прошла все надлежащие испытания, получен патент. Однако до настоящего времени она не лицензирована и не производится.

В 2013 году был сконструирован экспериментальный препарат прототипной химической туляреминой вакцины (ПХТВ). В состав ПХТВ входит протективный антигенный комплекс (ПАК) туляреминого микроба и белок S-слоя (Slp) чумного микроба. Установлено, что препарат прототипа химической туляреминой вакцины не токсичен для белых мышей и морских свинок и не оказывает повреждающего действия на их иммунную систему. Однократная подкожная иммунизация лабораторных животных препаратом ПХТВ вызывает формирование напряженного адаптивного иммунитета к 14 – 21-м суткам: выработку специфических антител и стимуляцию клеточного звена

иммунитета. Индекс защиты препарата ПХТВ для белых мышей при экспериментальной туляремии, вызванной *Francisella tularensis subsp. holarctica*, составил в среднем 87,5%, при инфицировании *F. tularensis subsp. nearctica* – 50%, с высокой напряженностью иммунитета в обоих случаях. На модели морских свинок была подтверждена высокая эффективность экспериментального препарата против туляремии голарктического подвида (индекс защиты 75%) и длительность напряженного иммунитета [31, 32].

Работы по поиску новых протективных антигенов для конструирования субъединичных вакцин [29, 33, 34] продолжаются. Активно изучают защитную роль ЛПС при формировании иммунного ответа. Иммунизация LPS обеспечивает защиту от системного заражения аттенуированными и вирулентными штаммами типа В, но не от заражения штаммом типа А и при аэрозольном заражении штаммами типов А и В. Работы по созданию химической вакцины против туляремии пока не увенчались успехом [13, 14, 35]. Вакцины, сконструированные на основе одного-двух индивидуальных иммунодоминантных антигенов, не могут обеспечить защиту от всех вирулентных вариантов возбудителя инфекции.

Субъединичные вакцины, как и убитые бактерии, индуцируют преимущественно гуморальный ответ и не способны вызывать выработку необходимого клеточного иммунного ответа [34, 35]. Одна из причин неэффективности вакцинации данными вакцинами является то, что *F. tularensis* – внутриклеточный микроорганизм, и только клеточно-опосредованный иммунитет может обеспечивать защиту макроорганизма от патогена. Недостаточная эффективность растворимых вакцинных препаратов связана с существенной ролью Т-лимфоцитов памяти в формировании поствакцинального иммунного ответа против *F. tularensis*. Как показали исследования, антительный ответ макроорганизма был протективен только при заражении низковирулентными штаммами *F. tularensis* [35].

#### Генно-инженерные вакцины

Альтернативными методами подхода к созданию безопасных вакцин являются молекулярно-генетические методы и технологии создания рекомбинантных ДНК. Конструирование вакцин нового поколения для профилактики туляремии затруднено, поскольку для *F. tularensis* к настоящему времени не определены иммунодоминантные антигены и специфические вирулентные детерминанты. В последние 20 лет активно развиваются разработка и конструирование рекомбинантных и ДНК-вакцин, основанных на технологии рекомбинантных ДНК. Это новое поколение вакцин, которые лишены многих недостатков традиционных профилактических препаратов. Они являются более безопасными, в результате проведения направленной делеции детерминант вирулентности, а значит, невозможности её реверсии. При этом рекомбинантные и ДНК-вакцины индуцируют выраженный специфический иммунный ответ на протективные антигены за счет сохраненной способности к размножению живого рекомбинантного микроорганизма (ограниченное время) на месте введения [28, 35, 36]. Гены вирулентного микроорганизма, отвечающие за синтез протективных антигенов, встраи-

вают в геном какого-либо безвредного микроорганизма, который при культивировании продуцирует и накапливает соответствующий антиген.

Перспективными в настоящее время считаются ДНК-вакцины, принцип конструирования которых заключается в том, что в организм вводят ДНК, кодирующую гены белков, к которым необходимо получить иммунный ответ. Такой подход позволяет индуцировать выраженный иммунный ответ как гуморальный, так и клеточный к широкому диапазону бактериальных и вирусных антигенов в опытах на различных животных моделях [29, 32, 37]. Наибольшие успехи были достигнуты при иммунизации грызунов, тогда как у крупных животных и людей ДНК-вакцины вызывают слабый или неустойчивый ответ даже после многократного введения больших доз ДНК-вакцин. Основные опасения при применении ДНК-вакцин связаны с отсутствием полного понимания многих сторон молекулярных механизмов их действия. До недавнего времени не исключалась возможность вертикальной передачи генов, риск интеграции в геном эукариотических клеток и, как следствие, индукция аутоиммунных патологических процессов, иммунологической толерантности, неопластической трансформации клеток хозяина и т.д. В настоящее время основной проблемой при использовании ДНК вакцин является вероятность возникновения системных патологических иммунных реакций в привитом организме. Очевидна необходимость изучения биологической безопасности ДНК-вакцин.

Однако конструирование вакцин нового поколения для профилактики туляремии затруднено из-за недостаточных сведений об иммунодоминантных антигенах и специфических вирулентных детерминантах *F. tularensis* [28, 29, 36]. На базе ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» МЗ РФ (Гинцбург А.Л.) разрабатывается (2016–2018 гг.) технология получения рекомбинантных псевдоаденовирусных частиц, содержащих гены белковых антигенов *F. tularensis Fop A, Dna K u TUL 4*, лабораторный регламент для получения «прайм»-компонента вакцины, методики контроля качества вакцины. Проведена предварительная (частичная) валидация методик контроля качества «прайм»-компонента вакцины с повышенным уровнем экспрессии основного иммунодоминантного протективного антигена [38, 39]. Ключевая проблема, стоящая перед исследователем, заключается в том, что всё ещё невозможно предсказать, какая экспрессионная система будет работать лучше для того или иного белка и конкретного метода использования. Универсально применимой системы экспрессии еще не разработано [40, 41].

В перечне потенциальных генов вирулентности *F. tularensis* одними из наиболее перспективных генов-мишеней считаются гены *iglC* и гены *гес*-оперона [35, 36, 41]. Установлено, что инактивация гена *recA* системы рекомбинации *F. tularensis* приводит к значительному снижению способности к гомологичной рекомбинации и, как следствие, к стойкому сохранению свойств штамма, что позволяет использовать мутации по этому гену для стабилизации наследуемых свойств при создании новых вакцинных штаммов. Впервые показано, что инактивация одной копии гена *iglC* (продукт которого необходим для внутриклеточного размножения вакцинного штамма) и

гена *recA* в геноме вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ стабильно снижает его реактогенные свойства при сохранении протективного потенциала. Разработан и успешно апробирован алгоритм отбора потенциальных вакцинных штаммов *F. tularensis* на основании изучения иммунобиологических свойств панели штаммов, созданных путем целенаправленной модификации генов. Получены варианты вакцинного штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 с делетированными генами *igl C*. Показано, что в геноме штамма 15 содержатся две копии гена *igl C*. Удаление одной копии гена практически не влияет на культурально-морфологические и ростовые свойства микроба. Бактерии без одной копии гена *iglC* размножаются в мышинных макрофагах медленнее по сравнению с исходным штаммом, в то время как инактивация двух копий гена *igl C* в штамме 15 приводит к полной потере способности размножаться в макрофагах. Полученные данные подтверждают ранее сделанный вывод о важности гена *igl C* для внутримикрофагального размножения штамма *LVS* и на примере вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Предложенный алгоритм направлен на оптимизацию оценки эффективности генетических модификаций при создании новых вакцинных штаммов. Созданные оригинальные суицидные плазмидные векторы и способ их введения в клетки туляремиального микроба методом трансформации позволяют проводить сайт-направленный мутагенез генома *F. tularensis*. Штамм *F. tularensis* 15/23-1ΔrecA предложен в качестве прототипа туляремиальной вакцины со сниженной реактогенностью для создания живой туляремиальной вакцины, патент на изобретение РФ №2567810 от 10.11.2015 г. [42].

## ВЫВОДЫ

Подводя итог вышеизложенному материалу, можно сделать вывод о том, что в настоящее время уделяется большое внимание повышению безопасности высокоиммуногенных вакцин. Применение лицензированной живой вакцины *F. tularensis* 15 НИИЭГ в Казахстане в течение 70 лет привело к сдерживанию туляремии. Однако за длительный период его использования выявлен ряд недостатков, связанных с проявлениями реактогенности некоторых штаммов-продуцентов, случаями осложнений при массовой иммунизации населения. Следует также учитывать увеличение числа лиц, страдающих вторичными иммунодефицитными состояниями и имеющих противопоказания к введению живых вакцин. Поэтому остается актуальной разработка вакцин нового поколения (как живых, так и молекулярных).

Основными критериями при отборе новых туляремиальных вакцинных штаммов являются, прежде всего, сниженная реактогенность при сохранении протективных свойств, генетическая стабильность и маркированность для дифференциации их от природных штаммов. Проводились исследования по созданию убитых вакцин, молекулярных субъединичных (химических) вакцин, были определены основные компоненты для создания таких препаратов. Решение этих задач возможно путем проведения направленного мутагенеза целевых генов *F. tularensis*. Прогресс в направлении разработок туляремиальных вакцин очевиден. Однако для доказательства, что новые иммунобиологические препараты по уровню иммуногенности могут сравнить-

ся с лицензионными вакцинами, проводятся масштабные доклинические исследования. В процессе этих исследований возникают новые технологии контроля вакцин. Так, при анализе протективных свойств более детально изучается Т-клеточный иммунитет по продукции гамма-интерферона спленоцитами или лимфоцитами; чтобы оценить продукцию внутриклеточных и внеклеточных цитокинов, используют метод проточной цитофлуориметрии [43-46]. При изучении гуморального звена иммунитета в настоящее время большое внимание уделяется определению классов и подклассов специфических антител. На текущий период живые вакцины из аттенуированного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ и *F. tularensis* *LVS* остаются единственной лицензированной вакциной, которую с 1943 г. и до настоящего времени используют для иммунопрофилактики туляремии на территории России и стран СНГ.

## Прозрачность исследования

*Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.*

## Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

*Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за статью.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Tularemia: MRIGlobal awarded DTRA contract to develop vaccine. <http://outbreaknewstoday.com/tularemia-mriglobal-awarded-dtra-contract-to-develop-vaccine-51108/>
- 2 Sunagar R., Kumar S., Franz B.J., Gosselin E.J. Tularemia vaccine development: paralysis or progress? // *Vaccine* (Auckl). – 2016. – Vol. 6. – P. 9-23. doi:10.2147/VDT.S85545
- 3 Айкимбаев М.А. Туляремия в Казахстане. – Алма-Ата: Изд-во «Наука», 1982. – 184 с.
- 4 Кардасинов К.К., Оспанов К.С., Есмагамбетова А.С. Природные очаги туляремии в Республике Казахстан. В кн.: *Окружающая среда и здоровье населения*. – Алматы, 2002. – №2/28. – С. 56-58
- 5 Приказ МНЭ РК от 25 февраля 2015 года №136 СП «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий по предупреждению особо опасных инфекционных заболеваний».
- 6 Постановление Правительства РК №2295 от 30 декабря 2009 года №2295 «Об утверждении перечня заболеваний, против которых проводятся профилактические прививки» с учетом постановления Правительства РК от 12 февраля 2013 года №119 об изменениях и дополнениях правил их проведения и групп населения, подлежащих плановым прививкам».
- 7 Избанова У.А. Использование современных информационных технологий в эпиднадзоре за туляремией: Автореф. ... канд. мед. наук. 14.00.30 – эпидемиология. – Алматы, 2010. – 24 с.
- 8 Куница Т.Н., Лухнова Л.Ю., Темиралиева Г.А., и др. Влияние экологических и социально-экономических факто-

ров на заболеваемость туляремией в Казахстане. Матер. IV Межд. научно-технической конф. «Новое в охране труда и окружающей среды». – Алматы, 2000. – С. 342-344

9 Атшабар Б.Б. и др. Паспорт регионов Казахстана по особо опасным инфекциям // Карантинные и зоонозные инфекции Казахстана. – 2015. – №1(31). – С. 179

10 Спатаев М.Б. Анализ деятельности зоолого-паразитологических групп областных санэпидстанций по туляремии и изучение распространения особо опасных инфекций в 2000 году и задачи на 2001 г. – Алматы, 2000. – 5 с.

11 Ибрайкулова Ж.С. Эпидемиологический надзор за туляремией в Казахстане в современных условиях: Автореф. канд. мед. наук. – Алматы, 2002. – 22 с.

12 Петров Р.В., Хайтов Р.М. Иммуногены и вакцины нового поколения. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 608 с.

13 Titball R. W., Ouston P. C. A vaccine for tularaemia // *Exp. Opin. Biol. Ther.* – 2003. – Vol. 3(4). – P. 645-653

14 Ellis J., Ouston P. C., Green M., Titball R. W. Tularemia // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2002. – Vol. 15(4). – P. 631-646

15 Олсуфьев Н.Г., Емельянова О.С., Угловой Г.П., Салтыков Р.А., Сиротюк Л.В. и др. Сравнительные испытания на людях вариантов вакцинного туляремийного штамма 15 Гайского // *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* – 1971. – №5. – С. 55-57

16 Саяпина Л.В., Соловьев Е.А., Горяев А.А., Бондарев В.П. Изучение иммунобиологических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ в условиях длительного хранения // *Проблемы особо опасных инфекции.* – 2015. – С. 87-91

17 Соловьев Е.А., Саяпина Л.В., Давыдов Д.С., Осина Н.А., Бондарев В.П. Изучение фенотипических и генетических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ с длительными сроками хранения // *Проблемы особо опасных инфекции.* – 2015. – №4. – С. 83-87

18 Гайский Н.А., Хижинская О.П. Первые итоги применения живой туляреминой вакцины. Извест. Иркутского Государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока. – М., 1946. – Т. VI. – С. 10-15

19 Чимиров О.Б., Айкимбаев А.М., Турсунов А.Н., Лухнова Л.Ю. Сравнительное испытание иммуногенных свойств штаммов туляремийных микробов среднеазиатского и голарктического подвидов // *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* – 1999. – С. 248-250

20 Гинцбург А.Л. Генодиагностика инфекционных заболеваний // *Журнал Микробиологии, Эпидемиологии Иммунобиологии.* – 1998. – № 3. – С. 86-95

21 Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Олефир Ю.В. Современное состояние вакцинопрофилактики особо опасных инфекций // *Проблемы особо опасных инфекции.* – 2016. – №2. – С. 107-110

22 Айкимбаев А.М. и др. Патент РК KZ (A) №12742, 18.07.2002 г. Штамм бактерии *Fr. Tularensis media asiatica*, аттенуированный, используемый для приготовления вакцины

23 Чимиров О.Б., Абдирасилова А.А., Турсунов А.Н., Лухнова Л.Ю. Специфическая иммуногенная активность штамма 240 возбудителя туляремии среднеазиатского подвида // *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* – 1999. – №1. – С. 243-244

24 Чимиров О.Б., Айкимбаев А.М., Турсунов А.Н., Лухнова Л.Ю., Мухамбетова А.К. Отбор и аттенуация высокоиммуногенных штаммов возбудителя туляремии среднеазиатского подвида // *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* – 1999. – С. 245-247

25 Куница Т.Н. Патент РК № 25947 от 29.06.12 г. Инновационный патент на «Штамм бактерий *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, tif-R, аттенуированный, рифампициноустойчивый, высокоиммуногенный, используемый для приготовления вакцины»

26 Мещерякова И.С., Петровская В.Г., Маракуша Б.И., Кормилицина М.И. Штамм бактерий *Francisella tularensis* для приготовления живой вакцины против туляремийной инфекции. Заявл. 19.01.1987. – 2006. – 6 с. Пат. SU №1839960 C12T1/60 A61K39/02

27 Кисличкин Н.Н., Кисличкина О.И. Заявл. 16.06.2006. – 2007. – 10 с. Патент РФ № 2308969 МПКА61K35/74 C12N1/00. Живая туляремийная вакцина *nik-sp. Francisella tularensis*

28 Зверева В.В., Семенова Б.Ф., Хайтова Р.М. Вакцины и вакцинация: национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 880 с.

29 Conlan J.W. Vaccines against *Francisella tularensis* – past, present and future // *Expert Review of Vaccines.* – 2004. – Vol. 3(3). – P. 307-314

30 Жемчугов В.Е. Как мы делали химические вакцины. – М.: Изд-во «Наука», 2004. – 347 с.

31 Волох О.А., Кузнецова Е.М., Смолькова Е.А. и др. Экспериментальный препарат для специфической профилактики туляремии // *Пробл. особо опасных инфекций.* – 2013. – Вып. 2. – С. 73-77

32 Sjostedt A. Virulence determinants and protective antigens of *Francisella tularensis* // *Curr. Opin. Microbiol.* – 2003. – Vol. 6(1). – P. 66-71

33 Fulop M., Manchee R., Titball R. Role of lipopolysaccharide and a major outer membrane protein from *Francisella tularensis* in the induction of immunity against tularemia // *Vaccine.* – 1995. – Vol. 13. – P. 1220-1225

34 Gunn J.S., Ernst R.K. The structure and function of *Francisella lipopolysaccharide* // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2007. – Vol. 1105. – P. 202-218

35 Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И. и др. Создание и изучение вариантов вакцинного штамма *Francisella tularensis* без генов *igl C*. Сообщение 1 // *Проблемы особо опасных инфекций.* – 2013. – №3(117). – С. 70-74.

36 Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Комбарова Т.И., Титарева Г.М., Кравченко Т.Б., Бахтеева И.В., Дятлов И.А., Павлов В.М. Создание и изучение вариантов вакцинного штамма *Francisella tularensis* без генов *igl C*. Сообщение 2 // *Проблемы особо опасных инфекций.* – 2013. – №4 (118). – С. 102-105

37 Кибирев Я.А., Дробков В.И., Маракулин И.В. Проблемы и перспективы разработки и внедрения генотерапевтических препаратов и ДНК-вакцин // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* – 2010. – №1. – С. 35-39

38 Доклинические исследования генно-инженерной двухкомпонентной вакцины для профилактики туляремии, входящий №386. <https://xpir.ru/project/14-N08-12-0071>



39 Экспрессия рекомбинантных белков: системы вектор-носитель. Материалы и методы 2012;2:123. <http://www.labome.ru/method/Recombinant-Protein-Expression-Vector-Host-Systems.html>

40 Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K. et al. Potential Source of Francisella tularensis Live Vaccine Strain Attenuation Determined by Genome Comparison // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74(12). – P. 6895- 6906

41 Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Титарева Г.М., Бахтеева И.В., Миронова Р.И., Комбарова Т.И., Кравченко Т.Б., Дятлов И.А., Павлов В.М. Получение и иммунобиологические свойства вакцинного штамма туляремийного микроба без одной копии гена *iglC* и без гена *res A* // Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. – 2015. – №3. – С. 33-39

42 Мокриевич А.Н., Комбарова Т.И., Павлов В.М. и др. Патент 2567810 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, C12N 15/01, A61K 39/02. Штамм *F. tularensis* 15/23-1ΔresA со сниженной реактогенностью для создания живой туляремийной вакцины и способ его получения / Заявитель и патентообладатель: Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (RU). – № 2013147130/10; заяв. 20.01.2014; опубл. 10.11.2015, Бюл. 31.

43 Cowley S.C., Elkins K.L. Immunity to Francisella // *Front Microbiol.* – 2011. – Vol. 2. – P. 1-21

44 Мокриевич А.Н., Титарева Г.М., Комбарова Т.И. и др. Иммуногенность и реактогенность штамма *Francisella tularensis* 15/23-1ΔresA, кандидата для создания новой живой туляремийной вакцины // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* – 2015. – Т. 85. – № 6. – С. 74-86

45 Baron S.D., Singh R., Metzger D.W. Inactivated Francisellatularensis live vaccine strain protects against respiratory tularemia by intranasal vaccination in an immunoglobulin A-dependent fashion // *Infect. Immun.* – 2007. – Vol. 75. – P. 2152-2162

46 Ray H.J., Cong Y., Murthy A.K. Oral live vaccine strain-induced protective immunity against pulmonary Francisella tularensis challenge is mediated by CD4+ T cells and antibodies, including immunoglobulin A // *Clin Vaccine Immunol.* – 2009. – Vol. 16. – P. 444-452

## REFERENCES

1 Tularemia: MRIGlobal awarded DTRA contract to develop vaccine. Available from: <http://outbreaknewstoday.com/tularemia-mriglobal-awarded-dtra-contract-to-develop-vaccine-51108/>

2 Sunagar R, Kumar S, Franz BJ, Gosselin EJ. Tularemia vaccine development: paralysis or progress? *Vaccine (Auckl)*. 2016;6:9-23. doi:10.2147/VDT.S85545

3 Aykimbaev MA. *Tulyaremiya v Kazakhstane* [Tularemia in Kazakhstan]. Almaty: Publishing house "Science"; 1982. P. 184

4 Kardasinov KK, Ospanov KS, Esmagambetova AS. Natural foci of tularemia in the Republic of Kazakhstan. In: *Okruzhaiushaya sreda i zdorovya naseleniya* [Environment and public health]. Almaty; 2002. No. 2/28. P. 56-8

5 *Prikaz MNJe RK ot 25 fevralya 2015 goda № 136 SP «Sanitarno-epidemiologicheskie trebovaniya k organizacii*

*i provedeniю sanitarno-protivoiepidemicheskikh (profilakticheskikh) meropriyatii po preduprezhdeniю osobo opasnykh infekcionnykh zabolevaniю* [Order NEM RK from February 25, 2015 number 136 JV "Sanitary-epidemiological requirements to the organization and conduct of sanitary and anti-epidemic (preventive) measures for the prevention of dangerous infectious diseases"]].

6 *Postanovlenie Pravitelstva RK №2295 ot 30 dekabrya 2009 goda №2295 «Ob utverzhdenii perechnya zabolevaniю, protiv kotorykh provodyatsya profilakticheskie privivki» s uchetom Postanovleniya Pravitelstva RK ot 12 fevralya 2013 goda №119 ob izmeneniyakh i dopolneniyakh pravil ikh provedeniya i grupp naseleniya, podlezhashchikh planovym privivkam* [Government Resolution № 2295 of December 30, 2009 № 2295 "On approval of the list of diseases against which carry out preventive vaccination" with regard to the Resolution of the Government of February 12, 2013 number 119 on amendments and additions to the rules of conduct and groups subject to routine immunization "]

7 Izbanova UA. *Ispolzovanie sovremennykh informacionnykh tehnologii v epidnadzore za tulyaremiю: Avtoref... kand. med.nauk. 14.00.30 – epidemiologiya* [The use of modern information technologies in the surveillance of tularemia: Abstract ... Candidate. med. 14.00.30 – Epidemiology]. Almaty; 2010. P. 24

8 Kunitsa TN, Luhnova LYu, Temiraliev GA. et al. *Vliyaniю ekologicheskikh i socialno-ekonomicheskikh faktorov na zabol-evaemost tulyaremiю v Kazakhstane. Mater. IV Mezhd. nauchno-tehnicheskoi konf. «Novoe v okhrane truda i okruzhajushhei sredy»* [Influence of environmental and socio-economic factors on the incidence of tularemia in Kazakhstan. Mater. IV Int. scientific and technical conf. "New to the health and the environment"]. Almaty; 2000. P. 342-4

9 Atshabar BB. et al. Regions of Kazakhstan passport on especially dangerous infections. *Karantinnye i zoonoznye infekcii Kazakhstana = Quarantine and Zoonotic Diseases Kazakhstan*. 2015;1(31):179 (In Russ.)

10 Spataev MB. *Analiz deyatelnosti zoologo-parazitologicheskikh grupp oblastnykh saniepidstancii po tulyaremiю i izuchenie rasprostraneniya osobo opasnykh infekcii v 2000 godu i zadachi na 2001 g.* [Analysis of zoological and parasitological groups of regional sanitary and epidemiological station for the study of tularemia and spread of especially dangerous infections in 2000 and tasks for 2001]. Almaty; 2000. P. 5

11 Ibraikulova JS. *Epidemiologicheskii nadzor za tulyaremiю v Kazakhstane v sovremennykh usloviyakh: Avtoref... kand. med. Nauk* [Epidemiological surveillance of tularemia in Kazakhstan in modern conditions: Abstract ... cand. med. sci]. Almaty; 2002. P. 22

12 Petrov RV, Khaitov RM. *Immunogeny i vakciny novogo pokoleniya* [Immunogens and a new generation of vaccines]. Moscow: GEOTAR-media; 2011. P. 608

13 Titball RW, Oyston PC. A vaccine for tularaemia. *Exp. Opin. Biol. Ther.* 2003;3(4):645-53

14 Ellis J, Oyston PC, Green M, Titball RW. Tularemia. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002;15(4):631-46

15 Olsufiev NG, Yemelyanova OS, Uglovoi GP, Saltykov RA, Sirotyuk LV. et al. Comparative tests on humans options tularemia vaccine strain of Ai, 15. *Zhurnal mikrobiologii,*

*epidemiologii i immunobiologii* = *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 1971;5:55-7 (In Russ.)

16 Saiapina LV, Soloviev EA, Goryaev AA, Bondarev VP. The study of immune-biological properties of the vaccine strain *Francisella tularensis* 15 SR1EH in long-term storage. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2015;87-91 (In Russ.)

17 Soloviev EA, Saiapina LV, Davydov DS, Osina NA, Bondarev VP. The study of phenotypic and genetic properties of the vaccine strain *Francisella tularensis* 15 SR1EH with long shelf life. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2015;4:83-7 (In Russ.)

18 Gaiskiy NA, Khizhinskaya OP. *Pervye itogi primeneniya zhivoi tulyareminoï vakciny. Izvest. Irkutskogo Gosudarstvennogo protivochumnogo instituta Sibiri i Dalnego Vostoka* [The first results of the use of live vaccines tulyareminoy. Irkutsk State Institute of Siberia and the Far East]. Moscow; 1946. T. VI. P. 10-5

19 Chimirov OB, Aykimbaev AM, Tursunov AN, Luhnova LYu. Comparative Test of the immunogenic properties of the strains of tularemia bacteria and Central Asian subspecies of the Holarctic. *Karantinnye i zoonoznye infekcii v Kazakhstane = Quarantine and Zoonotic infections in Kazakhstan*. 1999: 248-50 (In Russ.)

20 Gunzburg AL. Molecular diagnostics of infectious diseases. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 1998;3:86-95 (In Russ.)

21 Saiapina LV, Bondarev VP, Olefir Y. Current status of vaccination of especially dangerous infections. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2016;2:107-10 (In Russ.)

22 Aykimbaev AM. et al. *Patent RK KZ (A) №12742, 18.07.2002 g. Shtamm bakterii Fr. Tularensis media asiatica, attenuirovannyi, ispolzuemyi dlya prigotovleniya vakciny* [RK Patent KZ (A) №12742, 18.07.2002 strain of bacteria *Fr. Tularensis media asiatica*, attenuated used to prepare the vaccine]

23 Chimirov OB, Abdrasilov AA, Tursunov AN, Luhnova LYu. The specific immunogenic activity of the strain 240 pathogen of tularemia Central Asian subspecies. *Karantinnye i zoonoznye infekcii v Kazakhstane = Quarantine and Zoonotic infections in Kazakhstan*. 1999;1:243-4 (In Russ.)

24 Chimirov OB, Aykimbaev AM, Tursunov AN, Luhnova LYu, Muhambetova AK. The selection and attenuation High risk strains of tularemia Central Asian subspecies. *Karantinnye i zoonoznye infekcii v Kazakhstane = Quarantine and Zoonotic infections in Kazakhstan*. 1999:245-7 (In Russ.)

25 Kunitsa TN. *Patent RK № 25947 ot 29.06.12 g. Innovatsionnyi patent na «Shtamm bakterii Francisella tularensis mediaasiatica 240, rif-R, attenuirovannyi, rifampicinustoichivyi, vysokoimmunogennyi, ispolzuemyi dlya prigotovleniya vakciny»* [RK Patent number 25947 from 29.06.12, the innovative patent for the “strain of bacteria *Francisella tularensis mediaasiatica* 240, rif-R, attenuated, rifampicin, vysokoimmunogenny used to prepare the vaccine.].

26 Meshcheryakov IS, Petrovskaya VG, Marakusha BI, Kormilitsyna MI. *Shtamm bakterii Francisella tularensis dlya prigotovleniya zhivoi vakciny protiv tulyareminoï infekcii. Zayavl. 19.01.1987. – 2006. – 6 s. Pat.SU №1839960 S12T1/60 A61K39/02* [MI. The strain of *Francisella tularensis* bacteria for the preparation of a live vaccine against tularemia infection.

Stated. 19.01.1987. – 2006. – 6. Pat.SU №1839960 S12T1/60 A61K39/02].

27 Kislichkin NN, Kislichkina OI. *Zayavl. 16.06.2006. – 2007. – 10 s. Patent RF № 2308969 MPKA61K35/74 S12N1/00. Zhivaya tulyareminoï vakcina nik-sp. Francisella tularensis* [Stated. 16.06.2006. – 2007. – 10 p. RF Patent number 2308969 IPC A61K 35/74 S12N1 / 00. Live nik-sp tularemia vaccine. *Francisella tularensis*].

28 Zvereva VV, Semenova BF, Haitova RM. *Vakciny i vaktsinatsiya: nacionalnoe rukovodstvo* [Vaccines and vaccination: national leadership]. Moscow: GEOTAR-media; 2011. P. 880

29 Conlan JW. Vaccines against *Francisella tularensis* – past, present and future. *Expert Review of Vaccines*. 2004;3(3):307-14

30 Zhemchugov VE. *Kak my delali khimicheskie vakciny* [As we did the chemical vaccines]. Moscow: Publishing house «Science»; 2004. P. 347

31 Voloh OA, Kuznetsova EM, Smolkova EA. et al. An experimental drug for tularemia specific prevention. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2013;2:73-7 (In Russ.)

32 Sjostedt A. Virulence determinants and protective antigens of *Francisella tularensis*. *Curr. Opin. Microbiol.* 2003;6(1):66-71

33 Fulop M, Manchee R, Titball R. Role of lipopolysaccharide and a major outer membrane protein from *Francisella tularensis* in the induction of immunity against tularemia. *Vaccine*. 1995;13:1220-5

34 Gunn JS, Ernst RK. The structure and function of *Francisella* lipopolysaccharide. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007;1105:202-18

35 Mokrievich AN, Vahrameeva GM, Mironova RI. et al. Creation and study of the vaccine strain *Francisella tularensis* genes variants without *igl C*. Post 1. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2013;3(117):70-4 (In Russ.)

36 Mokrievich AN, Vahrameeva GM, Mironova RI, Kombarova TI, Titareva GM, Kravchenko TB, Bakhteeva IV, Dyatlov IA, Pavlov VM. Creation and study of the vaccine strain variants of *Francisella tularensis* genes without *igl C*. Post 2. *Problemy osobo opasnykh infekcii = Plague*. 2013;4(118):102-5 (In Russ.)

37 Kibirev YaA, Drobokov VI, Marakulin IV. Problems and prospects of the development and implementation of gene therapeutics and DNA vaccines. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2010;1:35-9 (In Russ.)

38 *Doklinicheskie issledovaniya genno-inzhenernoi dvukomponentnoi vakciny dlya profilaktiki tulyaremii, vkhodyashii №386* [Preclinical studies of genetic engineering of two-component vaccine for prophylaxis of tularemia, part №386]. Available from: <https://xpir.ru/project/14-N08-12-0071>

39 *Ekspressiya rekombinantnykh belkov: sistemy vektor-nositel. Materialy i metody 2012;2:123* [Expression of recombinant proteins: carrier vector system. Materials and Methods 2012; 2: 123]. Available from: <http://www.labome.ru/method/Recombinant-Protein-Expression-Vector-Host-Systems.html>.

40 Rohmer L, Brittnacher M, Svensson K. et al. Potential Source of *Francisella tularensis* Live Vaccine Strain Attenuation Determined by Genome Comparison. *Infect. Immun.* 2006;74(12):6895-906

41 Mokrievich AN, Vahrameeva GM, Titareva GM, Bakhteeva IV, Mironova RI, Kombarova TI, Kravchenko TB, Dyatlov IA, Pavlov VM. Obtaining and immunobiological properties of the vaccine strain of tularemia microbe without iglC one copy of the gene and the gene without rec A. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya, virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology, Virology*. 2015;3:33-9 (In Russ.)

42 Mokrievich AN, Kombarova TI, Pavlov VM. et al. *Patent 2567810 Rossiiskaya Federaciya, MPK C12N 1/20, C12N 15/01, A61K 39/02. Shtamm F. tularensis 15/23-1ΔrecA so snizhennoi reaktogenosti dlya sozdaniya zhivoi tulyaremiinoi vakciny i sposob ego polucheniya. Zayavitel i patentoobladatel: Federalnoe biudzhetnoe uchrezhdenie nauki Gosudarstvennyi nauchnyi centr prikladnoi mikrobiologii i biotekhnologii (RU). № 2013147130/10; zayav. 20.01.2014; opubl. 10.11.2015, Biul. 31 [Patent 2567810 Russian Federation, IPC C12N 1/20, C12N 15/01, A61K 39/02. The strain of F. tularensis 15 / 23-1ΔrecA with reduced reactivity to create live tularemia vaccine and its production method. The applicant and the patentee: Federal Budget Institution of Science State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology (RU). – № 2013147130/10; appl. 01/20/2014; publ. 11.10.2015, Bull. 31]*

43 Cowley SC, Elkins KL. Immunity to Francisella. *Front Microbiol.* 2011;2:1-21

44 Mokrievich AN, Titareva GM, Kombarova TI. et al. Immunogenicity and reactivity of Francisella tularensis strain 15 / 23-1ΔrecA, the candidate for a new live tularemia vaccine. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika = Epidemiology and vaccine prophylaxis*. 2015;85(6):74-86 (In Russ.)

45 Baron SD, Singh R, Metzger DW. Inactivated Francisellatularensis live vaccine strain protects against respiratory tularemia by intranasal vaccination in an immunoglobulin A-dependent fashion. *Infect. Immun.* 2007;75:2152-62

46 Ray HJ, Cong Y, Murthy AK. Oral live vaccine strain-induced protective immunity against pulmonary Francisella tularensis challenge is mediated by CD4+ T cells and antibodies, including immunoglobulin A. *Clin Vaccine Immunol.* 2009;16:444-52

#### ТҰЖЫРЫМ

**У.А. ИЗБАНОВА, Т.Н. КУНИЦА, Л.Ю. ЛУХНОВА**

*Масгут Айқымбаев атындағы Қазақ карантиндік және зооноздық жұқпалар ғылыми орталығы,*

*Қазақстан Республикасы Ұлттық экономика министрлігі, Тұтынушылардың құқықтарын қорғау комитеті*

#### **ТУЛЯРЕМИЯНЫҢ СПЕЦИФИКАЛЫҚ АЛДЫН АЛУ САЛАСЫНДАҒЫ ЖЕТИСТІКТЕРІ**

Қазақстанда туляремияның алдын алудың негізін тұрғындардың қауіп төнетін контингентіне ЭГФЗИ (Ресей) № 15 линиялы тірі туляремиялық вакцинамен егу болып табылады.

Туляремияға қарсы іс шаралар деңгейінің төмендеуі, сөзсіз ауыр эпидемиологиялық асқынуларға әкеледі, бұл кездейсоқ аурулардың тіркелуі емес, жаппай адамдардың ауруына әкелетін эпидемиологиялық ахуалды өзгертуі мүмкін.

**Зерттеудің мақсаты.** Туляремиялық вакцинаны дайындау саласындағы ғылыми зерттеулерге шолу және талдау жүргізу.

**Материал және әдістері.** Материалдар электронды кітапханалардан жиналып, талданды, электронды ақпараттық ресурстар: Web of Knowledge, Scopus, Springer баспа және электронды материалдары қолданылды.

**Нәтижелері және талқылауы.** Қазақстандағы туляремияға қарсы вакциналық алдын алудың тиімділігі сараланды және туляремиялық вакцинаны дайындау саласындағы ғылыми зерттеулерге шолу жүргізілді, медицинаның бұл саласындағы ғылымның даму беталысы анықталды.

**Қорытынды.** Қазіргі таңда вакцинаның жаңа буынын (тірі, сонымен қатар молекулярлық) дайындау өзекті мәселе болып отыр. Жаппай, ал қажет болған жағдайда тұрғындарды жедел иммунизациялау жүргізуде жоғары иммуногенді, сонымен қатар қауіпсіз лицензияланған алдын алу препараттары қажет.

**Негізгі сөздер:** туляремия, иммундық алдын алу, вакцина, химиялық вакцина, ДНҚ-вакцина.

#### SUMMARY

**U.A. IZBANOVA, T.N. KUNITSA, L.YU. LUKHNOVA**

*"Kazakh national center of quarantine and zoonous infections n.a. M. Aikimbayev" Republican State Enterprise on the Right of Economic Use of the Committee on Consumer Protection of the Ministry of national economy of the Republic of Kazakhstan, Almaty c.*

#### **ACHIEVEMENTS IN THE FIELD OF SPECIFIC PROPHYLAXIS OF TULAREMIA**

In Kazakhstan, tularemia prophylaxis lays in vaccination of dangerous contingents of population with organized tularemia vaccine #15 of a line of Research Institute of Epidemiology and Hygiene (Russia). The level decrease of the antitularemic activities leads to bad epidemiologic complications, which can change the epidemiologic situation to the side of, not sporadic, but mass-scale morbidity of people.

**Study purpose** is to gather and analyze the scientific investigations in the field of tularemia vaccine elaboration.

**Material and methods.** The materials and analysis were done in electronic libraries, were used the printed and electronic materials of electronic information sources: Web of Knowledge, Scopus, Springer.

**Results and discussion.** There are presented the analysis of efficiency of the vaccine preventions against tularemia in Kazakhstan and there view of tularemia vaccine elaboration, it is identified the tendencies of science development in this field of medicine.

**Conclusion.** Nowadays, it is actual to elaborate the vaccines of a new generation (both organized and molecular). Both, enhanced-immune and safe licensed prophylactic medications are necessary for conduction of mass-scale, and if necessary, extra immunization of population.

**Key words:** tularemia, immunoprophylaxis, vaccine, chemical vaccine, DNA vaccine.

*Для ссылки: Избанова У.А., Куница Т.Н., Лухнова Л.Ю. Достигновения в области специфической профилактики туляремии // Medicine (Almaty). – 2016. – No 10 (172). – P. 49-59*

*Статья поступила в редакцию 23.09.2016 г.*

*Статья принята в печать 17.10.2016 г.*