

ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА *YERSINIA* *PESTIS* EV НИИЭГ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ

Щуковская Т.Н., Курылина А.Ф., Шавина Н.Ю., Бугоркова С.А.

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт „Микроб“, г. Саратов, Россия

Резюме. В условиях моделирования бубонной и легочной форм чумы штаммами *Yersinia pestis* основного и неосновного подвидов из различных природных очагов проведена оценка защитного действия сочетанного применения иммуноадьювантов полиоксидония (ПО), Poly(I:C) – синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3), синтетического аналога лей-энкефалина даларгина (ДА) и вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ по интегральному показателю ImD50 на мышах инбредной линии BALB/c. Введение в схему вакцинации против чумы иммуноадьювантов ПО, Poly(I:C), ДА, отличающихся по механизму действия, однонаправленно усиливает протективные свойства вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне формирования разной степени интенсивности гуморального иммунного ответа и свидетельствует о превалирующем значении клеточного типа иммунного ответа в обеспечении напряженного иммунитета к чуме. Введение ПО в схему иммунизации приводит к четырехкратному росту количества выживших животных при легочной форме чумы. Обоснована целесообразность использования иммуноадьювантов в схеме специфической и экстренной профилактики чумы.

Ключевые слова: чума, иммуноадьюванты, вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ, протективная активность

INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM, Poly(I:C), DALARGIN ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF *YERSINIA PESTIS* VACCINE STRAIN EV LINE NIEG IN EXPERIMENTAL PLAGUE

Shchukovskaya T.N., Kurylina A.F., Shavina N.Yu., Bugorkova S.A.

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. In this study, the use of immunoadjuvants polyoxidonium (azoximer bromide), Poly (I:C) as a synthetic analog of double-stranded RNA (TLR3 ligand), and synthetic analog of leu-enkephalin dalargin (DA) was experimentally investigated for their potential to minimize ImD50 *Yersinia pestis* vaccine strain EV line NIEG co-administrated via invasive (subcutaneous) and noninvasive (intranasal) routes in lethal bubonic and pneumonic models of plague followed by challenge with virulent *Y. pestis*

Адрес для переписки:

Щуковская Татьяна Николаевна
ФКУЗ «Российский научно-исследовательский
противочумный институт „Микроб“»
410005, Россия, г. Саратов,
ул. Университетская, 46.
Тел.: 8 (452) 26-21-31.
Факс: 8 (452) 51-52-12.
E-mail: rusrapi@microbe.ru, tatyanaschuk@mail.ru

Address for correspondence:

Shchukovskaya Tatiana N.
Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”
410005, Russian Federation, Saratov,
Universitetskaya str., 46.
Phone: 7 (452) 26-21-31.
Fax: 7 (452) 51-52-12.
E-mail: rusrapi@microbe.ru, tatyanaschuk@mail.ru

Образец цитирования:

Т.Н. Щуковская, А.Ф. Курылина, Н.Ю. Шавина,
С.А. Бугоркова «Влияние полиоксидония,
Poly(I:C), даларгина на защитное действие
вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV НИИЭГ
при экспериментальной чуме» // Российский
иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1.
С. 41-50.
doi: 10.46235/1028-7221-005-IOP
© Щуковская Т.Н. и соавт., 2020

For citation:

T.N. Shchukovskaya, A.F. Kurylina, N.Yu. Shavina,
S.A. Bugorkova “Influence of polyoxidonium, Poly(I:C),
dalargin on the protective efficacy of *Yersinia pestis*
vaccine strain EV line NIEG in experimental
plague”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy
Immunologicheskii Zhurnal, 2020, Vol. 23, no. 1,
pp. 41-50.
doi: 10.46235/1028-7221-005-IOP
DOI: 10.46235/1028-7221-005-IOP

strains of the main and non-main subspecies from various natural plague foci. The data showed that in all cases immunoadjuvants significantly increased protective efficacy of *Y. pestis* vaccine strain EV line NIEG co-administrated to BALB/c inbred mice in case of lethal challenge with virulent *Y. pestis* strains in spite of varying magnitude of humoral immune response. *Y. pestis* vaccine strain EV line NIEG formulated with polyoxidonium provided more effective protection against lethal challenge with wild-type high virulent strain *Y. pestis* in pneumonic model of plague. Polyoxidonium introduced into vaccine formula resulted in four-fold rise in total survival in animals with pneumonic plague. Feasibility of using immunoadjuvants for regimen of specific and urgent plague prevention is justified.

Keywords: plague, immunoadjuvants, vaccine strain *Y. pestis* EV NIEG, protective efficacy

Введение

Профилактика чумы — особо опасной инфекционной болезни с природной очаговостью, возбудитель которой *Yersinia pestis* относится к микроорганизмам I группы патогенности, — предусматривает проведение комплекса многоплановых профилактических мероприятий, включая вакцинацию, которая внесена в календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям [15]. За рубежом отсутствуют лицензированные вакцины для специфической профилактики чумы [36]. В России для этого используют препарат «вакцина чумная живая» (ВЧЖ) (лиофилизированная живая культура вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ), вызывающий развитие иммунитета длительностью до 1 года, что обуславливает необходимость проведения ежегодной ревакцинации прививаемого контингента [15]. В этой связи поиск адъювантов, охарактеризованных по структуре и способных повысить эффективность формирования адаптивного иммунитета против чумы при снижении дозы вводимого антигена, является актуальной задачей. Перспективным представляется использование в качестве адъювантов иммуноактиваторов полиоксидония (азоксимера бромид) (ПО), синтетического аналога лей-энкефалина даларгина и синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3) — Poly(I:C). Полиоксидоний обладает выраженным иммуномодулирующим, детоксицирующим, антиоксидантным, мембраностабилизирующим и антиген-сенсибилизирующим эффектом, широко применяется в комплексном лечении инфекционно-воспалительных процессов любой локализации и этиологии, входит в состав вакцины против гриппа [10, 29]. В эксперименте совместное введение ПО с антигенами чумного микроба (Pla, LcrV, YopM) усиливает выработку специфических антител [12]. Даларгин — гексапептид Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg, отличающийся от лей-энкефалина наличием D-Ala² и присоединенного в С-положении отрица-

тельно заряженного остатка Arg, преимущественно связывается с δ -опиоидными рецепторами и в меньшей степени с μ -рецепторами, не проникает через гематоэнцефалический барьер. Даларгин способен стимулировать регенерацию кожи, подкожной клетчатки, нервной и костной ткани, печени, широко используется при лечении язвенной болезни желудка, обладает высокой имунотропной активностью, способностью стимулировать синтез ДНК, оптимизировать состояние свободнорадикального окисления, активировать механизмы нитрирования и нитрозилирования внутриклеточных мишеней (система NOS-NO) [2, 9]. Poly(I:C) является синтетическим аналогом двуспиральной РНК (лиганда Toll-подобного рецептора 3 — TLR3). TLR3 (CD283) локализованы и экспрессируются в основном в эндосомальных компартментах миелоидных дендритных клеток, моноцитов, макрофагов [23]. TLR3 агонист Poly(I:C) индуцирует продукцию провоспалительных цитокинов и IFN β , активацию цитотоксических CD8⁺T-клеток [33]. Показана эффективность включения Poly(I:C) в состав разрабатываемых вакцин против гепатита В, герпеса [17, 38]. Конъюгат Poly(I:C) и арабиногалактана с антигенами *Micobacterium tuberculosis* (Ag85B и HspX) предложен в качестве перспективной вакцины для специфической профилактики туберкулеза [20].

Цель исследования — сравнительная оценка действия полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на иммуногенные и протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при экспериментальной чуме.

Материалы и методы

Работа проводилась в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» [3]. Вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV НИИЭГ (Pgm⁻, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺); вирулентные штаммы основного подвида *Y. pestis* 231(708) (Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺), *Y. pestis* P-13268 (Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺) Вьетнам, штамм не основного подвида *Y. pestis* P-2998

(Pgm⁺, pFra⁺, pCad⁺, pPst⁺) получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». В экспериментах использовали мышей линии BALB/с массой 18±2 г, полученных из отдела экспериментальных животных с виварием РосНИПЧИ «Микроб» (г. Саратов). Манипуляции с животными, а также выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [37]. Протокол исследований одобрен Комиссией по биоэтике при ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Для культивирования *Y. pestis* использовали LB agar (Sigma-Aldrich, США); агар Хоттингера pH (7,2±0,1). Оценку иммунологической эффективности сочетанного применения ПО (ООО «НПО Петровакс Фарм», Россия), даларгина (ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс», Россия), Poly(I:C) (InvivoGen, США) и вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования чумной инфекции проводили по интегральному показателю ImD₅₀ на мышцах инбредной линии BALB/с при подкожном (п/к) заражении *Y. pestis* 231(708), *Y. pestis* P-13268, *Y. pestis* P-2998 дозой 400 LD₅₀ на 21-е сутки после вакцинации [13]. ПО, даларгин, Poly(I:C) вводили биомоделям п/к (инвазивный способ) за 1 час до иммунизации или заражения в дозах 4, 2, 50 мкг соответственно. ПО в дозе 4 мкг вводился также мышам BALB/с интраназально (и/н, неинвазивный способ). Действие адьювантов на течение экспериментальной чумной инфекции у интактных животных тестировали по значению LD₅₀ заражающего штамма *Y. pestis*. Для моделирования легочной формы чумы у мышей BALB/с при и/н заражении и определения DCL тест-штамма *Y. pestis* 231(708) использовали пятикратно возрастающие концентрации от 50 до 6250 КОЕ. Обезболивание проводили препаратом «Ксила» (Xila, Нидерланды) в дозе 0,08 мг ксилазина гидрохлорида на мышшь с последующей ингаляционной анестезией газовой смесью (Аерран, Бакстер АГ, Австрия) в комбинации с кислородом) с применением ветеринарного наркозного аппарата Comrakt. Наблюдение за животными осуществляли в течение 20 суток. Гибель от чумы подтверждалась наличием характерных для чумной инфекции патологоанатомических изменений, результатами высевов из органов и крови на пластинки агара Хоттингера pH (7,2±0,1), содержащий стимулятор роста сульфит натрия 0,024±0,001% и генцианвиолет

0,0045±0,0005%, наличием чумного микроба в мазках — отпечатках из органов павших животных, окрашенных по Граму. Антитела к капсульному антигену F1 чумного микроба в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА). Сенсибилизацию планшетов для ТИФА (Corning Inc., США) проводили очищенным препаратом F1 с молекулярной массой 15 кДа. Антитела, связавшиеся с F1, выявляли с помощью антител диагностических против IgG (H+L) мыши, меченных пероксидазой (филиал «Медгамал» ФГБУ «НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи»). В качестве хромогенного субстрата использовали ABTS (Sigma-Aldrich, США). Учет оптической плотности осуществляли на микропланшетном фотометре Stat Fax-3200 (США) при длине волны 405 нм. Активность антител в сыворотке определяли в трех повторах и выражали в виде обратного среднегеометрического титра и его средней квадратической ошибки. Достоверность уровня различия сравниваемых величин оценивали по непараметрическому критерию Манна—Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$. Определение ImD₅₀ и LD₅₀ проводили по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [1].

Результаты

Сравнительная оценка действия полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования бубонной формы чумы

На первом этапе проводились расчет LD₅₀ заражающего вирулентного штамма основного подвида *Y. pestis* 231(708) и оценка влияния различных способов введения ПО на LD₅₀ *Y. pestis* 231 у невакцинированных животных. Для интактных животных LD₅₀ штамма *Y. pestis* 231(708) составил 8 (7÷9) КОЕ, а в группах с п/к и и/н способами введения ПО — 9 (8÷10) и 9 (6÷12) КОЕ соответственно. Даларгин и Poly(I:C) также существенно не влияли на развитие чумной инфекции у биомодельных животных и значение LD₅₀ заражающего штамма. Результаты сравнительной оценки влияния ПО, Poly(I:C), даларгина на протективные свойства вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ на основании интегрального показателя ImD₅₀ при п/к заражении тест-штаммом *Y. pestis* 231(708) летальной дозой 400 LD₅₀ (3500 КОЕ) на 21 сутки после вакцинации представлены в таблице 1. Нами установлено, что иммунизация экспериментальных животных вакцинным штаммом чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне

введения адъювантов с иммунопотенцирующим действием приводит к повышению напряженности адаптивного противочумного иммунитета, о чем свидетельствует достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей ImD_{50} в 3,2 раза в группах с полиоксидонием, Poly(I:C) и в 2,6 раза в группе с даларгином по сравнению с вакцинированными только вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Нами изучена возможность использования ПО, Poly(I:C), даларгина в схеме экстренной профилактики чумы. Как было отмечено выше, ПО, даларгин, Poly(I:C) у невакцинированных животных не влияют как на развитие самой чумной инфекции, так и на значение LD_{50} . Напротив, введение данных препаратов вакцинированным мышам BALB/c перед заражением летальной дозой 400 LD_{50} *Y. pestis* 231(708) приводит к достоверному ($p < 0,05$) снижению показателей ImD_{50} *Y. pestis* EV НИИЭГ в группе с ПО в 2,6 раза, с Poly(I:C) в 1,9 раза, с даларгином в 1,5 раза по срав-

нению с вакцинированными животными без введения иммуноактиваторов (рис. 1). Для верификации установленного нами повышения иммуноадъювантами защитного действия вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ было оценено влияние ПО на его протективные свойства в условиях моделирования бубонной формы чумы штаммами *Y. pestis* основного и неосновного подвидов из различных природных очагов (*Y. pestis* P-13268, Вьетнам, LD_{50} для белых мышей 5 м.к.; *Y. pestis* И-2998, Горно-Алтайский высокогорный очаг, LD_{50} для белых мышей 15 м.к.). Зарегистрировано выраженное усиление протективного действия *Y. pestis* EV НИИЭГ при введении ПО (рис. 2). Отмечалось достоверное ($p < 0,05$) уменьшение ImD_{50} *Y. pestis* EV НИИЭГ (в 19 раз) при инфицировании штаммом основного подвида *Y. pestis* P-13268 (Вьетнам) и штаммом неосновного подвида *Y. pestis* И-2998 (в 1,5 раза). В группе сравнения в условиях заражения штаммом *Y. pestis*

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ НА ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА *Y. pestis* EV НИИЭГ

TABLE 1. INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM (PO) ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF VACCINE STRAIN *Y. pestis* EV LINE NIEG

Иммунизирующий препарат <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ, доза (КОЕ) Immunized strain <i>Y. pestis</i> EV line NIEG dose (CFU)	Заражающий штамм, <i>Y. pestis</i> 231, доза Challenge strain <i>Y. pestis</i> 231, dose	Число животных (выжившие/общее кол-во) Number of animals (survived/inoculated)	Средняя продолжительность жизни в сутках Mean time-to-death (days) M±m	ImD_{50} КОЕ CFU M (min÷max)
2×10^2	400 LD_{50} (3500 КОЕ 3500 CFU)	0/10	5,1±0,4	$25 (21 \div 237) \times 10^3$
1×10^3	—	0/10	4,4±0,4	
5×10^3	—	1/10	8,4±1,8	
$2,5 \times 10^4$	—	3/10	10,9±2,2	
2×10^2 + п/к ПО	—	0/10	5,2±0,3	$8 (3 \div 23) \times 10^3$
1×10^3 + п/к ПО	—	0/10	5,4±0,7	
5×10^3 + п/к ПО	—	4/10	11,2±2,6	
$2,5 \times 10^4$ + п/к ПО	—	8/10	17,6±2,2	
2×10^2 + и/н ПО	—	0/10	6,2±0,3	$11 (5 \div 21) \times 10^3$
1×10^3 + и/н ПО	—	0/10	6,4±0,3	
5×10^3 + и/н ПО	—	4/10	11,8±2,5	
$2,5 \times 10^4$ + и/н ПО	—	6/10	15,6±2,3	
Плацебо Placebo	—	0/10	5,4±0,5	—
Плацебо Placebo	10 LD_{50}	0/10	5,6±0,7	—

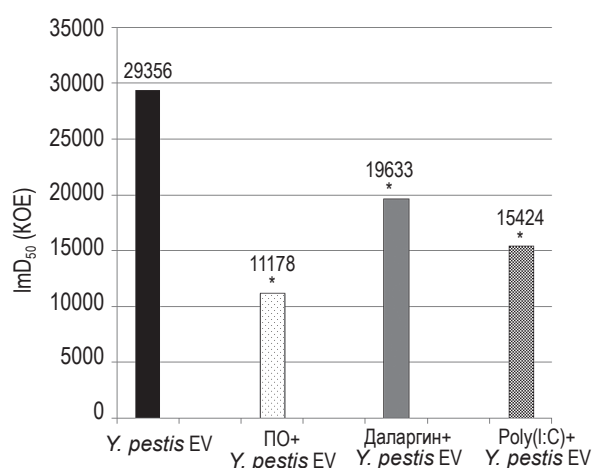


Рисунок 1. Значение ImD₅₀ для штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ на фоне подкожного введения даларгина, Poly(I:C), полиоксидония (ПО) перед заражением 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231 мышей BALB/c

Примечание. По оси ординат – количество КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ; * $p < 0,05$ при сравнении с вакцинированными только *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Figure 1. The mean of ImD₅₀ of *Y. pestis* strain EV NIEG in treatment groups with dalargin, Poly (I:C), polyoxidonium (PO) before lethal challenge mice BALB/c with 400 LD₅₀ *Y. pestis* strain 23

Note. On the axis of the ordinate – the number of CFU (colony forming units) *Y. pestis* strain EV NIEG; * $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV NIEG.

231(708), применяющимся в качестве заражающего тест-штамма при контроле вакцины чумной живой и использованным нами в предыдущих экспериментах, также регистрировалось достоверное ($p < 0,05$) снижение показателей ImD₅₀ в 3,6 раза. Следует отметить, что цифровые показатели данной группы соответствуют таковым, полученным в других независимых экспериментах и приведенным ранее в таблице 1, и свидетельствуют о высокой информативности и воспроизводимости результатов исследования.

Влияние полиоксидония на протективные свойства *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования легочной формы чумы

Нами для моделирования легочной формы чумы у инбредных мышей BALB/С при и/н заражении и определения абсолютной смертельной дозы DCL (dosis certae letalis) тест-штамма *Y. pestis* 231(708) были использованы пятикратно возрастающие дозы клеток чумного микроба от 50 до 6250 КОЕ. Гибель зараженных мышей BALB/с с клиническими признаками легочной формы чумы отмечалась в 100% случаев во всех группах животных и наступала на 9-11-й день после зараже-

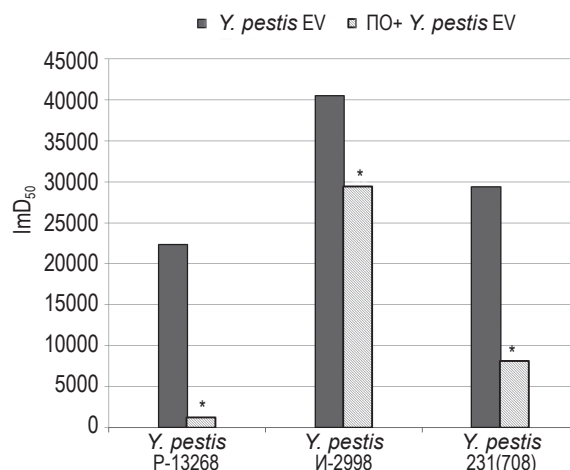


Рисунок 2. Значение ImD₅₀ для штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при совместном введении с полиоксидонием (ПО) в условиях заражения 400 LD₅₀ *Y. pestis* P-3268, *Y. pestis* I-2998, *Y. pestis* 231(708) мышей линии BALB/c

Примечание. По оси ординат – количество КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ; * $p < 0,05$ при сравнении с вакцинированными только *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Figure 2. The mean of ImD₅₀ of *Y. pestis* strain EV NIEG coadministrated with polyoxidonium (PO) after lethal challenge with 400 LD₅₀ *Y. pestis* R-3268, *Y. pestis* I-2998, *Y. pestis* 231 (708) on 21 day post immunization mice line BALB/c

Note. On the axis of the ordinate – the number of CFU *Y. pestis* strain EV NIEG; * $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV NIEG.

ния с характерными патоморфологическими изменениями, описанными нами ранее [7]. Через 24-48 часов инкубации посевов при температуре $28 \pm 0,5$ °C на площади отпечатков образцов легких наблюдался сплошной рост типичной по морфологическим признакам культуры чумного микроба. В области отпечатков печени и селезенки, напротив, регистрировались либо единичные колонии чумного микроба, либо отсутствие роста, что полностью согласуется с данными Р. Fellows и соавт. [18] о меньшей степени обсемененности чумным микробом печени и селезенки при экспериментальной легочной форме чумы. На основании полученных результатов доза 50 КОЕ вирулентного тест-штамма *Y. pestis* 231(708) была определена 1 DCL.

Далее было охарактеризовано влияние ПО, который вводили п/к непосредственно перед иммунизацией, на защитное действие вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования легочной формы чумы. Заражение 5DCL *Y. pestis* 231(708) осуществляли и/н на 21 день после иммунизации. Установлено, что доза $2,5 \times 10^4$ КОЕ, определенная ранее как ImD₅₀ для *Y. pestis* EV

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ПОЛИОКСИДОНИЯ, Poly(I:C), ДАЛАРГИНА НА ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА *Y. pestis* EV НИИЭГ В УСЛОВИЯХ ПОДКОЖНОЙ ВАКЦИНАЦИИ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/c ДОЗАМИ 5×10^3 И $2,5 \times 10^4$ (КОЕ)

TABLE 2. INFLUENCE OF POLYOXIDONIUM, Poly(I:C), DALARGIN ON IMMUNOGENIC PROPERTIES OF THE VACCINE STRAIN OF THE PLAGUE MICROBE *Y. pestis* EV НИИЭГ IN CONDITIONS OF SUBCUTANEOUS VACCINATION OF BALB/c MICE WITH DOSES OF 5×10^3 И $2,5 \times 10^4$ (CFU)

Иммунизирующий препарат <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ, доза (КОЕ) Immunized strain <i>Y. pestis</i> EV line НИИЭГ dose (CFU)	Количество животных в группе Number of animals in group	Обратные значения среднегеометрического титра Geometric mean reciprocal titers to F1 <i>Y. pestis</i> protein M±m
5×10^3 КОЕ	10	213,3±60,3
$2,5 \times 10^4$ КОЕ	10	512±0,1*
5×10^3 КОЕ + ПО	10	512±0,1**
$2,5 \times 10^4$ КОЕ + ПО	10	1536±370**
5×10^3 КОЕ + Даларгин 5×10^3 CFU + Dalargin	10	96±15,9
$2,5 \times 10^4$ КОЕ + Даларгин $2,5 \times 10^4$ CFU + Dalargin	10	66±44,9**
5×10^3 КОЕ + Poly(I:C)	10	384±92,6
$2,5 \times 10^4$ КОЕ + Poly(I:C)	10	512±0,1
Физиологический раствор PBS	10	< 40

Примечание. * – достоверность различий по отношению к дозе 5×10^3 КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ ($p < 0,05$); ** – достоверность различий по отношению к группе сравнения, иммунизированных только *Y. pestis* EV НИИЭГ ($p < 0,05$).

Note. *, $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice 5×10^3 CFU *Y. pestis* EV НИИЭГ; **, $p < 0.05$ in comparison with vaccinated mice only *Y. pestis* EV НИИЭГ.

НИИЭГ при п/к заражении 400 LD₅₀ *Y. pestis* 231(708), защищала от гибели при легочной форме чумы лишь 10% мышей BALB/c (рис. 3). Введение ПО в схему иммунизации приводит к четырехкратному росту количества выживших животных при легочной форме чумы ($p < 0,05$).

Влияние полиоксидония, Poly(I:C), даларгина на иммуногенные свойства *Y. pestis* EV НИИЭГ

У всех иммунизированных животных, как видно из таблицы 2, детектируются антитела к F1 чумного микроба, уровень которых зависит от иммунизирующей дозы вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Нами установлено, что при сочетанной вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ с ПО регистрируется значимое ($p < 0,05$) дозозависимое повышение титров антител к капсульному антигену чумного микроба по сравнению с группами экспериментальных животных, иммунизированных только вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ. Титры антител к F1 чумного микроба в сыворотке крови животных, иммунизированных $2,5 \times 10^4$ КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ в сочетании с ПО, в 3 раза ($p < 0,05$) превышали титры соответствующих антител у биомоделей, вакцинированных 5×10^3 КОЕ

Y. pestis EV НИИЭГ в сочетании с данным адьювантом. Напротив, даларгин при совместном введении с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ индуцировал резкое снижение титров детектируемых антител, что свидетельствует о перестройке на клеточный тип иммунного ответа. Включение Poly(I:C) в схему иммунизации мышей BALB/c вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ существенно не влияло на выработку антител к F1 чумного микроба.

Обсуждение

Проблема создания высокоэффективных вакцин против чумы связана в первую очередь с высокой вирулентностью возбудителя чумы, обусловленной синергическим взаимопотенцирующим действием целого комплекса разнонаправленных факторов, которые блокируют ключевые барьерные механизмы системы врожденного иммунитета и препятствуют формированию полноценного адаптивного иммунитета [25, 35]. Высокоиммуногенная линия НИИЭГ была выделена из аттенуированного штамма *Y. pestis* EV и до настоящего времени используется в технологии производства ВЧЖ [5]. По данным полногеномно-

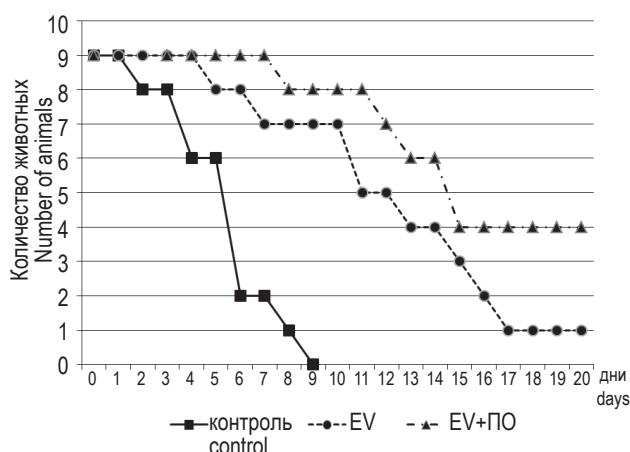


Рисунок 3. Влияние сочетанного введения *Y. pestis* EV НИИЭГ с полиоксидонием (ПО) на продолжительность жизни мышей линии BALB/c в условиях интраназального заражения 5 DCL *Y. pestis* 231

Примечание. По оси ординат – количество животных. По оси абсцисс – срок наблюдения в днях.

Figure 3. The influence of *Y. pestis* EV NIEG coadministration with polyoxidonium (PO) on the survival of BALB/c mice after intranasal challenge with 5 DCL (dosis certae letalis) *Y. pestis* strain 231

Note. On the axis of the ordinate – the number of surviving animals. On the axis of abscissus – days after intranasal challenge.

го SNP-анализа в геноме штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ отсутствует вся хромосомная область пигментации – *pgm* область, включая входящий в нее остров высокой патогенности *HP1* с генами сидерофорзависимой системы потребления железа. Наличие в хромосоме такой протяженной делеции размером около 102 т.п.н. исключает возможность реверсии вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ к вирулентности, что также подтверждено многолетним опытом применения ВЧЖ у людей [14]. Большинство факторов вирулентности – система секреции III типа (T3SS), эффекторные белки внешних мембран (Yop), V-антиген (LcrV), активатор плазминогена (Pla), капсульный антиген «фракция I» (F1, Caf1) – детерминировано генами плазмид *pCad*, *pPst* и *pFra*, которые все три содержатся в геноме вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Ряд факторов (F1, V-антиген) являются иммунодоминантными антигенами, участвующими в формировании адаптивного иммунитета и индуцирующими продукцию специфических антител [8]. В то же время в иммунобиологической перестройке организма вакцинированных участвуют и другие антигены (комплекс белка с ЛПС, YopD и т.п.), часть из которых (YopH, YopE, YopJ/YopP, YopM, тетра-ацилированная форма ЛПС и др.) обладает иммуносупрессивными свойствами, блокирующими

прохождение активационных сигналов и формирование пролонгированного противочумного иммунитета [25, 27].

Результаты нашего исследования показали, что введение в схему вакцинации *Y. pestis* EV НИИЭГ иммуноадьювантов полиоксидония, даларгина, синтетического аналога двуспиральной РНК (лиганда TLR3) – Poly(I:C), отличающихся по механизму действия, однонаправленно усиливает протективные свойства вакцинного штамма чумного микроба на фоне формирования разной степени интенсивности гуморального иммунного ответа и свидетельствует о превалирующем значении клеточных факторов иммунитета при чуме. Рядом исследователей доказано участие $CD4^+$ и $CD8^+$ T-клеток и продуцируемых ими $IFN\gamma$, $TNF\alpha$ в механизме защиты от легочной формы чумы [28, 32]. Ранее нами было выявлено стимулирующее влияние ПО при сочетанном применении с *Y. pestis* EV НИИЭГ на процессы пролиферации клеток в Т-зонах лимфоидных органов и активацию субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у мышей линии BALB/c [6], а также продукцию *in vitro* биомаркерных цитокинов Th1 ($IFN\gamma$, $TNF\alpha$, IL-17) и Th2 (IL-4) клетками крови вакцинированных и ежегодно ревакцинированных ВЧЖ лиц [11]. Зарегистрировано повышение протективной активности ВЧЖ у морских свинок при внутривенной иммунизации с ПО [16], что согласуется с полученными нами данными об усилении защитного действия вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ в условиях моделирования как бубонной, так и легочной формы чумы при сочетанном применении с ПО, введенного в организм биомоделей рекомендованными для клинической практики п/к или и/н способами. В то же время ПО не оказывает заметного влияния на протективные свойства вакцины бруцеллезной живой [4]. Как известно TLR распознают консервативные, характерные только для микроорганизмов структуры – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), а также эндогенные молекулы, выделяемые при некрозе и/или апоптозе клеток (белки теплового шока, фибриноген и др.). TLR3 способен также распознавать mRNA погибших клеток [22]. Сигналы, передаваемые через TLRs, обуславливают созревание макрофагов и дендритных клеток, экспрессию ко-стимулирующих молекул CD40, CD80, CD86, развитие иммунного ответа по Th1-типу [24]. Наличие TLR3, помимо интрацеллюлярной локализации, выявлено на поверхности дендритных клеток, макрофагов, эндотелиальных клеток. Лиганд TLR3-Poly(I:C) стимулирует

ет созревание дендритных клеток, экспрессию костимулирующих молекул CD80, CD86 и маркеров HLA-DR, CD83, активирует индукцию дендритными клетками пролиферации аллогенных Т-клеток, а также продукцию IFN β [26]. В наших исследованиях включение Poly(I:C) в схему иммунизации значимо усиливало защитное действие вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ и не влияло на выработку антител к F1 чумного микроба, что свидетельствует о стимуляции клеточного типа иммунного ответа и согласуется с данными о повышении Poly(I:C) продукции *in vitro* цитокинов IL-17, TNF α , IFN γ лейкоцитами вакцинированных и ревакцинированных ВЧЖ людей [11].

Синтетический аналог лей-энкефалина — даларгин — взаимодействует преимущественно с δ -опиоидными рецепторами, экспрессия которых выявлена на моноклеарных клетках различных лимфоидных органов, Т-клетках периферической крови человека [30, 31]. Агонисты δ -опиоидных рецепторов модулируют пролиферацию Т-клеток, продукцию IL-2, хемотаксис, активность циклазных систем, проводимость мембран для ионов калия и кальция [19, 21]. Даларгин стимулирует *in vitro* продукцию IL-17, IFN γ , IL-4 клетками крови

вакцинированных ВЧЖ лиц, у ревакцинированных — только IL-17 и IFN γ [11]. В настоящем исследовании даларгин при совместном введении с вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ индуцировал достоверное повышение напряженности противочумного иммунитета на фоне значительного снижения титров антител к капсульному антигену F1 чумного микроба, что может быть связано с участием δ -опиоидных рецепторов в механизме ингибирования высвобождения В-клетками синтезируемых иммуноглобулинов [34].

Таким образом, нами в условиях моделирования бубонной и легочной форм чумы продемонстрировано доминирующее значение клеточного типа иммунного ответа в обеспечении напряженного иммунитета к чуме, экспериментально обоснована целесообразность использования иммуноадаьювантов в схеме специфической и экстренной профилактики чумы. Лекарственная форма азоксимера бромида «Полиоксидоний» по своей эффективности и доступности является наиболее оптимальной для повышения иммунных и протективных свойств вакцины чумной живой на основе вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ.

Список литературы / References

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с. [Ashmarin I.P., Vorobyov A.A. Statistical methods in microbiological research]. Leningrad: Medgiz, 1962. 180 p.
2. Балачевский Б.В., Курзанов А.Н., Славинский А.А. Даларгин-индуцируемая модуляция функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов // Успехи современного естествознания, 2008. № 5. С. 75-77. [Balachevsky B.V., Kurzanov A.N., Slavinsky A.A. Dalargin-induced modulation by functional-metabolic activity of neutrophil leukocytes. *Uspekhi sovremennogo yestestvoznaniya = Successes of Modern Natural Science*, 2008, no. 5, pp. 75-77. (In Russ.)]
3. Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности): санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.3118-13. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014. 195 с. [Safety of work with microorganisms in pathogenic groups I-II (hazard): sanitary-epidemiological rules SP 1.3.3118-13]. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 2014. 195 p.
4. Богачева Н.В., Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Федотов А.К., Кучеренко А.С. Экспериментальное изучение влияния иммуномодуляторов на эффективность применения вакцины брусцеллезной живой сухой // Эпидемиология и вакцинопрофилактика, 2016. Т. 15, № 2. С. 84-92. [Bogacheva N.V., Okhapkina V. Yu., Pyatkova N.V., Fedotov A.K., Kucherenko A.S. Experimental research of the influence of immunomodulators on efficiency using of brucellosis living dry vaccine. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinoprophylaxis*, 2016, Vol. 15, no. 2, pp. 84-92. (In Russ.)]
5. Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Щуковская Т.Н., Кутырев В.В. Исторические и современные представления о проблеме специфической профилактики чумы // Проблемы особо опасных инфекций, 2013. № 3. С. 63-69. [Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Shchukovskaya T.N., Kutyrev V.V. Historical and modern views on the problem of specific plague prophylaxis. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2013, no. 3, pp. 63-69. (In Russ.)]
6. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н. Морфофункциональная характеристика иммунокомпетентных органов мышей линии BALB/c при иммунизации вакцинным штаммом *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на фоне иммуномодуляции // Проблемы особо опасных инфекций, 2017. № 2. С. 58-62. [Bugorkova S.A., Kurylina A.F., Shchukovskaya T.N. Morphological-functional characteristics of immune competent organs of BALB/c mice in case of vaccination with *Yersinia pestis* NIIEG strain against the background of immune modulation. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2017, no. 2, pp. 58-62. (In Russ.)]
7. Бугоркова С.А., Курылина А.Ф., Щуковская Т.Н., Шавина Н.Ю. Морфологическая характеристика экспериментальной легочной чумы // Клиническая и экспериментальная морфология, 2017. № 2 (22). С. 46-51.

[Bugorkova S.A., Kurylina A.F., Shchukovskaya T.N., Shavina N.Yu. Morphologic characteristics of experimental pneumonic plague. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology*, 2017, no. 2 (22), pp. 46-51. (In Russ.)]

8. Дентовская С.В., Копылов П.Х., Иванов С.А., Агеев С.А., Анисимов А.П. Молекулярные основы вакцинопрофилактики чумы // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2013. Т. 28, № 3. С. 3-12. [Dentovskaya S.V., Kopylov P.Kh., Ivanov S.A., Ageev S.A., Anisimov A.P. Molecular bases of vaccine-prevention of plague. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya = Molecular Genetics, Microbiology and Virology*, 2013, Vol. 28, no. 3, pp. 3-12. (In Russ.)]

9. Животова Е.Ю., Лебедько О.А., Тимошин С.С. Влияние структурных аналогов лей-энкефалина на процессы синтеза ДНК и свободно-радикальное окисление в слизистой оболочке желудка белых крыс // Дальневосточный медицинский журнал, 2012. № 1. С. 109-112. [Zhivotova E.Yu., Lebedko O.A., Timoshin S.S. Effect of leu-enkephalin analogues on the process of DNA synthesis and free radical oxidation in gastric mucous lining of albino rats. *Dalnevostochnyy meditsinskiy zhurnal = Far East Medical Journal*, 2012, no. 1, pp. 109-112. (In Russ.)]

10. Караулов А.В., Евстигнеев И.В. Современные подходы к вакцинопрофилактике гриппа // Вакцинация, 2011. Т. 1, № 1. С. 43-52. [Karaulov A.V., Evstigneev I.V. Modern approaches to flu vaccine prophylactic. *Vaktsinatsiya = Vaccination*, 2011, Vol. 1, no. 1, pp. 43-52. (In Russ.)]

11. Ключева С.Н., Шуковская Т.Н. Влияние адъювантов нового поколения *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови вакцинированных против чумы лиц // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 2. С. 201-208. [Klyueva S.N., Shukovskaya T.N. Adjuvants influence of new generation *in vitro* cytokine production by blood cell vaccinated against plague persons. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 2, pp. 201-208. (In Russ.)]

12. Ляпина А.М., Полянина Т.И., Ульянова О.В., Елисеев Ю.Ю., Теплов М.В., Мотин В.Л., Федорова В.А. Применение полиоксидония для получения специфических антител к бактериальным антигенам // Современные проблемы науки и образования: электронный научный журнал, 2012. № 2. [Lyapina A.M., Polyagina T.I., Ulyanova O.V., Eliseev Yu.Yu., Teplov M.V., Motin V.L., Fedorova V.A. Application polyoxidonium for obtaining specific antibodies to bacterial antigens. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya: elektronnyy nauchnyy zhurnal = Modern Problems of Science and Education: Electronic Scientific Journal*, 2012, no. 2. (In Russ.)] Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=5729>.

13. МУ 3.3.1.1113-02. Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба: методические указания. М.: Минздрав России, 2002. 64 с. [MU 3.3.1.1113-02. The basic requirements for vaccine strains of plague Microbe: methodical instructions]. Moscow: Russia Ministry of Health, 2002. 64 p.

14. Одинокоев Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680-SNP алгоритма // Проблемы особо опасных инфекций, 2013. № 3. С. 49-54. [Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kukleva L.M., Cherkasov A.V., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Analysis of the genome wide sequence of *Yersinia pestis* strains based on the consecutive 680-SNP algorithm. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2013, no. 3, pp. 49-54. (In Russ.)]

15. Профилактика чумы. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.7.3465-17 // Бюллетень нормативных и методических документов Госсанэпиднадзора, 2017. Вып. 4 (70). С. 3-21. [Prevention of plague. Sanitary-epidemiological regulations SP 3.1.7.3465-17. *Byulleten normativnykh i metodicheskikh dokumentov Gossanepidnadzora = Bulletin of Regulatory and Methodical Documents of State Sanitary and Epidemiological Surveillance*, 2017, Iss. 4 (70), pp. 3-21. (In Russ.)]

16. Пономарева Т.С., Дерябин П.Н., Каральник Б.В., Тугамбаев Т.И., Атшабар Б.Б., Денисова Т.Г., Закарян С.Б., Мельникова Н.Н. Влияние полиоксидония на иммуногенную и протективную активность живой чумной вакцины // Иммунология, 2014. Т. 35, № 5. С. 286-290. [Ponomareva T.S., Deryabin P.N., Karalnik B.V., Tugambaev T.I., Atshabar B.B., Denisova T.G., Zakaryan S.B., Melnikova N.N. The impact of polyoxidonium on immunogenic and protective activity alive plague vaccine. *Immunologiya = Immunology*, 2014, Vol. 35, no. 5, pp. 286-290. (In Russ.)]

17. Bardel E., Doucet-Ladeveze R., Mathieu C., Harandi A.M., Dubois B., Kaiserlian D. Intradermal immunisation using the TLR3-ligand Poly (I:C) as adjuvant induces mucosal antibody responses and protects against genital HSV-2 infection. *NPJ Vaccines*, 2016, Vol. 1, 16010. doi: 10.1038/npjvaccines.2016.10.

18. Fellows P., Lin W., Detrisac C., Hu S.C., Rajendran N., Gingras B., Holland L., Price J., Bolanowski M., House R.V. Establishment of a Swiss Webster mouse model of pneumonic plague to meet essential data elements under the animal rule. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2012, Vol. 19, no. 4, pp. 468-476.

19. Gein S.V., Tendryakova S.P. Agonists of μ - and δ -opioid receptors in the regulation of IL-2, IL-4, and IFN- γ production by peripheral blood cells *in vitro*. *Hum. Physiol.*, 2015, Vol. 41, no. 3, pp. 323-327.

20. Huang Q., Yu W., Hu T. Potent antigen-adjuvant delivery system by conjugation of *Mycobacterium tuberculosis* Ag85B-HspX fusion protein with arabinogalactan-Poly(I:C) conjugate. *Bioconjug. Chem.*, 2016, Vol. 27, no. 4, pp. 1165-1174.

21. Karaji A.G., Reiss D., Matifas A., Kieffer B.L., Gavériaux-Ruff C. Influence of endogenous opioid systems on T lymphocytes as assessed by the knockout of mu, delta and kappa opioid receptors. *J. Neuroimmune Pharmacol.*, 2011, Vol. 6, no. 4, pp. 608-616.

22. Kariko K., Ni H., Capodici J., Lamphier M., Weissman D. mRNA is an endogenous ligand for Toll-like receptor 3. *J. Biol. Chem.*, 2004, Vol. 279, no. 13, pp. 12542-12550.
23. Kawai T., Akira S. The roles of TLRs, RLRs and NLRs in pathogen recognition. *Int. Immunol.*, 2009, Vol. 21, no. 4, pp. 317-337.
24. Li X., Jiang S., Tapping R.I. Toll-like receptor signaling in cell proliferation and survival. *Cytokine*, 2010, Vol. 49, no. 1, pp. 1-9.
25. Li B., Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infect. Immun.*, 2008, Vol. 76, no. 5, pp. 1804-1811.
26. Lundberg A.M., Drexler S.K., Monaco C., Williams L.M., Sacre S.M., Feldmann M., Foxwell B.M. Key differences in TLR3/poly I:C signaling and cytokine induction by human primary cells: a phenomenon absent from murine cell systems. *Blood*, 2007, Vol. 110, no. 9, pp. 3245-3252.
27. Martínez-Chavarría L.C. *Yersinia pestis*-host immune cells interactions at early events during bubonic plague infection. *Curr. Trop. Med. Rep.*, 2016, Vol. 3, no. 2, pp. 51-59.
28. Philipovsky A.V., Smiley S.T. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infect. Immun.*, 2007, Vol. 75, no. 2, pp. 878-885.
29. Shakya A.K., Nandakumar K.S. Applications of polymeric adjuvants in studying autoimmune responses and vaccination against infectious diseases. *J. R. Soc. Interface*, 2013, Vol. 10, no. 79, 20120536. doi: 10.1098/rsif.2012.0536.
30. Sharp B.M., Li M.D., Matta S.G., McAllen K., Shahabi N.A. Expression of delta opioid receptors and transcripts by splenic T-cells. *Ann. N.-Y. Acad. Sci.*, 2000, Vol. 917, no. 3, pp. 764-770.
31. Sharp B.M., McAllen K., Gekker G., Shahabi N.A., Peterson P.K. Immunofluorescence detection of δ opioid receptors (DOR) on human peripheral blood CD4⁺ T cells and DOR-dependent suppression of HIV-1 expression. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 2, pp. 1097-1102.
32. Szaba F.M., Kummer L.W., Duso D.K., Koroleva E.P., Tumanov A.V., Cooper A.M., Bliska J.B., Smiley S.T., Lin J. TNF α and IFN γ but not perforin are critical for CD8 T cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *PLOS Pathog.*, 2014, Vol. 10, no. 5, e1004142. doi: 10.1371/journal.ppat.1004142.
33. Toussi D.N., Massari P. Immune adjuvant effect of molecularly-defined Toll-like receptor ligands. *Vaccines (Basel)*, 2014, Vol. 2, no. 2, pp. 323-353.
34. Vassou D., Bakogeorgou E., Kampa M., Dimitriou H., Hatzoglou A., Castanas E. Opioids modulate constitutive B-lymphocyte secretion. *Int. Immunopharmacol.*, 2008, Vol. 8, no. 5, pp. 634-644.
35. Verma S.K., Tuteja U. Plague vaccine development: current research and future trends. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 602. doi: 10.3389/fimmu.2016.00602.
36. WHO Workshop Meeting Report "Efficacy trials of Plague Vaccines: endpoints, trial design, site selection". 2018, INSERM, Paris. 12 p.
37. World Health Organization. Vaccine Supply and Quality Unit. Manual of laboratory methods for testing of vaccines used in the WHO Expanded Programme on Immunization. World Health Organization, 1997. 221 p.
38. Wu J., Huang S., Zhao X., Chen M., Lin Y., Xia Y., Sun C., Yang X., Wang J., Guo Y., Song J., Zhang E., Wang B., Zheng X., Schlaak J.F., Lu M., Yang D. Poly(I:C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model. *J. Virol.*, 2014, Vol. 88, no. 18, pp. 10421-10431.

Авторы:

Шуковская Т.Н. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Курьлина А.Ф. — научный сотрудник лаборатории эпизоотологического мониторинга ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Шавина Н.Ю. — младший научный сотрудник отдела экспериментальных животных с виварием ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Бугоркова С.А. — д.м.н., заведующая отделом иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

Авторы:

Shchukovskaya T.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Kurylina A.F., Research Associate, Laboratory of Epizootological Monitoring, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Shavina N.Yu., Junior Research Associate, Department of Experimental Animals with Vivarium, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" Saratov, Russian Federation

Bugorkova S.A., PhD, MD (Medicine), Head, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Поступила 17.05.2019
Отправлена на доработку 17.09.2019
Принята к печати 11.12.2019

Received 17.05.2019
Revision received 17.09.2019
Accepted 11.12.2019