

DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-340-350

## ЭКСТРЕННАЯ ПРОФИЛАКТИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕЛИОИДОЗА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИНТЕТИЧЕСКИХ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ВАКЦИН

И.А. Хабарова, С.И. Жукова, К.А. Ротов, Е.А. Снатенков,  
А.В. Топорков, Д.В. Викторов

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
Федеральное казенное учреждение здравоохранения  
«Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Россия

Мелиоидоз относится к категории особо опасных бактериальных инфекций и против возбудителя мелиоидоза — *Burkholderia pseudomallei* — специфическая профилактика пока не разработана, хотя исследования в этом направлении (зарубежные и отечественные) продолжаются более 100 лет. В связи с этим разработка схем лечения и экстренной профилактики мелиоидоза является на сегодняшний день весьма актуальной задачей. Для повышения эффективности экстренной профилактики мелиоидоза в экспериментах на белых мышах были использованы препараты синтетических пептидов (бестим, имунофан) и тиопозитинового препарата глутоксим при их совместном применении с антибиотиком доксициклином. Кроме того, в опытах на белых мышах была оценена способность гетерологичных вакцин (чумной и туляремийной), примененных в режиме экстренной профилактики, повышать резистентность животных к мелиоидозной инфекции. Показано, что из трех синтетических иммуномодуляторов более эффективным оказался имунофан, который при совместном применении с доксициклином повышал на 20% выживаемость от заражения 5 ЛД<sub>50</sub> *Burkholderia pseudomallei* и существенно увеличивал среднюю продолжительность жизни мышей при заражении 5—12 ЛД<sub>50</sub> ( $p < 0,05$ ). Показана эффективность использования для стимуляции неспецифической резистентности к мелиоидозу гетерологичной чумной вакцины EV, однократное введение которой за 1 сут. до заражения защищало 90% мышей от 6 ЛД<sub>50</sub> *Burkholderia pseudomallei* и 60% — при повышении заражающей дозы возбудителя мелиоидоза до 15 ЛД<sub>50</sub>. Такой же уровень защиты от мелиоидоза обеспечивал и 3-дневный курс антибиотикотерапии доксициклином. Сделан вывод о нецелесообразности использования для иммуностимуляции при мелиоидозе туляремийной вакцины ввиду ее высокой остаточной вирулентности и реактогенности.

**Ключевые слова:** мелиоидоз, иммунитет, экстренная профилактика, синтетические иммуномодуляторы, имунофан, гетерологичные вакцины

*Ответственный за переписку:*

Жукова Светлана Ивановна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. 400131, г. Волгоград, ул. Голубинская, д. 7. E-mail: svetlana25.01@yandex.ru. SPIN 9447-2181, ORCID 0000-0001-6271-8390

Хабарова И.А. SPIN7269-3722, ORCID 0000-0003-1767-7790

Топорков А.В. SPIN 4097-8232, ORCID 0000-002-3449-4657

Викторов Д.В. SPIN 6356-5876, ORCID 0000-0002-2722-7948

Ротов К.А. SPIN 4852-5591

Снатенков Е.А. SPIN 6760-7478, ORCID 0000-0001-5692-1229

**Для цитирования:** Хабарова И.А., Жукова С.И., Ротов К.А., Снатенков Е.А., Топорков А.В., Викторов Д.В. Экстренная профилактика экспериментального мелиоидоза с использованием синтетических иммуномодуляторов и гетерологичных вакцин // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2018. Т. 22. № 3. С. 340—350. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-340-350.

**For citation:** Khabarova I.A., Zhukova S.I., Rotov K.A., Snatnikov E.A., Toporkov A.V., Viktorov D.V. (2018). Emergency Prophylaxis of Experimental Melioidosis Using Synthetic Immunomodulators and Heterologous Vaccines. *RUDN Journal of Medicine*, 22 (3), 340—350. DOI: 10.22363/2313-0245-2018-22-3-340-350.

Мелиоидоз — особо опасное инфекционное заболевание, в отношении которого пока не создана вакцина. Учитывая это обстоятельство, борьба с мелиоидозной инфекцией на современном этапе включает в себя только применение антибактериальных препаратов, используемых в режимах экстренной профилактики или лечения уже развившейся инфекции. Однако тяжесть клинического течения мелиоидоза, склонность к хронизации инфекционного процесса, природная устойчивость возбудителя мелиоидоза к большинству антибактериальных препаратов обуславливают значительные трудности в лечении этого заболевания [1]. Применение антибактериальных препаратов не всегда защищает от развития хронических форм или летального исхода при мелиоидозе. Кроме того, лечение обычно делят на две фазы: в первой, или острой, фазе парентеральные антибактериальные препараты назначаются не менее чем на 10 дней с целью предотвращения часто развивающегося сепсиса с последующим летальным исходом; на втором этапе или этапе эрадикации, пероральные антибиотики, как правило, применяются в общей сложности 20 недель с целью недопущения рецидива, что практически неизбежно приводит к развитию разнообразных побочных эффектов от подобной массивной антибиотикотерапии [2, 3]. Таким образом, повышение эффективности и безопасности экстренной профилактики мелиоидоза является одной из актуальных задач в борьбе с этой инфекцией.

В настоящее время неотъемлемой частью экстренной профилактики многих инфекций является иммунокоррекция [4—6]. Целесообразность включения иммуномодуляторов (ИМ) в схему экстренной профилактики экспериментально доказана и при особо опасных инфекциях. Так, в опытах Т.А. Бондаревой с соавт. [7] показано увеличение продолжительности жизни и повышение выживаемости животных, зараженных возбудителем чумы, как при профилактическом, так и экстренном введении полиоксидония на фоне лечения антибиотиком. Использование О.И. Коготковой с соавт. [8] в схеме экстренной профилактики сибиреязвенной инфекции у лабо-

раторных животных совместно с антибиотиком синтетического иммуномодулятора глюкозаминилмурамилдипептида позволило не только увеличить выживаемость мышей, удлинить инкубационный период и продлить средний срок жизни павших животных, но и снизить суточную и курсовую дозу антибиотика в 3 раза. Применение С.Г. Канатбаевым с соавт. иммуномодулятора левамизола совместно с антибиотиками при бруцеллезе позволило повысить на 60—100% устойчивость животных к возбудителю и обеспечить оздоровление животноводческого хозяйства от бруцеллезной инфекции за короткий период [9].

Успехи современной фармакологии, внедрение новых технологий синтеза биологически активных веществ позволило получить большое число новых иммуотропных препаратов. Среди них — рекомбинантные цитокины, тиопозитины, синтетические аналоги важнейших регуляторов иммунной системы. В частности, в клиническую практику вошли такие соединения, как глутоксим, бестим, имунофан. Бестим и имунофан представляют собой синтетические пептиды — аналоги тимических гормонов: бестим —  $\gamma$ -Д-глутамил-триптофан, имунофан — аргинил-альфа-аспартил-лизил-валил-тирозил-аргинин, глутоксим — химически синтезированный гексапептид (бис-(гамма-L-глутамил)-L-цистеинил-бис-глицин динатриевая соль) — структурный аналог естественного метаболита — окисленного глутатиона (GSSG). Все три препарата применяются в лечении разнообразных заболеваний бактериальной и вирусной природы (туберкулез, хронический пиелонефрит, хламидиоз, респираторные болезни, гепатиты С и В, цитомегаловирусная инфекция, герпетическая инфекция, криптоспоридиоз, пневмоцистоз, листериоз и другие), а также успешно используются в комплексной терапии онкологических заболеваний [6, 10—12].

Известно, что некоторые микробные продукты, выделенные из различных бактерий (продигозан, сальмозан, пирогенал, бронхомунал и др.), при введении в макроорганизм повышают его неспецифическую резистентность к инфекциям. Такой же способностью обладают и цельные

микробные клетки в составе аттенуированных вакцин (например, вакцина БЦЖ [13, 14]. Иммуномодуляторы бактериальной природы могут иметь значимые отличия по составу, назначению, форме выпуска, однако все препараты этой группы объединяет общий механизм действия: специфический (вакцинирующий эффект) и неспецифический (иммуностимулирующий эффект). На протяжении последних 15—20 лет внимание исследователей привлекают гетерологичные вакцины в плане их использования для создания протективного иммунитета к мелиоидозу. Основанием для подобных работ является обнаружение перекрестно-реагирующих антигенов патогенных буркхольдерий и возбудителей некоторых опасных инфекционных заболеваний, в частности, возбудителей чумы, туляремии, сальмонеллеза, туберкулеза [15]. И.Н. Манзенюк с соавт. [16] на моделях морских свинок и белых мышей показали защитный эффект живых туляремийной, чумной и сальмонеллезной вакцин при экспериментальном сапе и мелиоидозе. Протективное действие туляремийной вакцины на моделях белых крыс и морских свинок описано также в работах Н.Г. Плехановой с соавт. [17], в опытах на морских свинках — в работе В.И. Илюхина с соавт. [18].

**Цель исследования:** испытание возможности повышения эффективности экстренной профилактики экспериментального мелиоидоза за счет включения в схему антибиотикотерапии ИМ — глутоксима, бестима, имунофана, а также оценка возможности использования гетерологичных вакцин (чумной и туляремийной) в качестве неспецифических иммуномодуляторов в условиях применения в режиме экстренной профилактики мелиоидоза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все эксперименты проведены на беспородных белых мышах. Использованы препараты синтетических пептидов: бестим (ГосНИИ ОЧП, Санкт-Петербург), имунофан (НПП «Бионокс», Москва), глутоксим (ЗАО «Фарма ВАМ», Санкт-Петербург). Препарат имунофан вводили животным в дозе 0,06 мкг внутривентриально (в 0,5 мл

физиологического раствора) по двум схемам: двукратно — за 1 сут. до и на следующие сутки после заражения (схема «–1, +1», день заражения — «0») и семикратно — за 1 сут. и в течение 6 сут. после заражения (схема «–1, +1, +2, +3, +4, +5, +6»). Препараты глутоксим (45 мкг) и бестим (0,6 мкг) вводили мышам внутривентриально в объеме 0,5 мл физиологического раствора по схеме «–1, +1». Синтетические иммуномодуляторы применяли в сочетании с антибиотиком доксициклином, который инъецировали подкожно один раз в сутки в дозе 2 мг в течение 3 сут. после заражения. При семидневном применении имунофана для лечения использовали небольшую дозу доксициклина: 3 дня по 30 мкг в сутки.

В опыте по изучению иммуностимулирующей активности имунофана, бестима и глутоксима в схеме экстренной профилактики мелиоидоза использовано 4 группы опытных животных и 1 контрольная (по 10 мышей в каждой группе). В опыте по оценке влияния продолжительности введения имунофана на эффективность экстренной профилактики инфекции использовано 3 группы опытных животных (по 12 мышей в каждой группе) и 1 контрольная группа (10 мышей).

Для моделирования экспериментальной инфекции использовали умеренно вирулентный штамм возбудителя мелиоидоза *Burkholderia pseudomallei C-141*, односуточную агаровую культуру которого вводили мышам подкожно в дозах 5—12 ЛД<sub>50</sub>. За зараженными животными наблюдали 30 дней, после чего вычисляли показатели выживаемости: процент выживших и среднюю продолжительность жизни погибших животных (СПЖ).

Для стимуляции неспецифической резистентности животных к мелиоидозной инфекции использовали две гетерологичные вакцины: чумную вакцину EV и туляремийную вакцину *Francisella tularensis 15 НИИЭГ*. Культуру вакцинного штамма EV в дозе 10<sup>6</sup> м. кл вводили мышам подкожно в объеме 0,2 мл физиологического раствора за 1, 2, 3 сут. до заражения, в день заражения и на 1, 2, 3 сут. после заражения вирулентной культурой возбудителя мелиоидоза (6—15 ЛД<sub>50</sub>). Туляремийную вакцину в дозе 10<sup>2</sup> м. кл (в 0,2 мл фи-

зиологического раствора) вводили животным за 1 и 3 сут. до заражения 6 ЛД<sub>50</sub> *B. pseudomallei* C-141. Контрольная группа животных получала антибиотик доксициклин в дозе 2 мг в течение 3 сут. после заражения (схема «+1, +2, +3»). Экспериментальных животных, получавших гетерологичные вакцины в режиме экстренной профилактики, заражали *B. pseudomallei* C-141 в дозах 6—15 ЛД<sub>50</sub>. В экспериментах по изучению эффективности чумной и туляреминой вакцин при экстренной профилактике мелиоидоза использовано 5 опытных групп беспородных белых мышей и 1 контрольная (по 10 мышей в каждой группе). В опыте по изучению влияния схемы применения чумной вакцины на ее защитные свойства при экстренной профилактике мелиоидоза использовано 7 опытных групп мышей и 1 — контрольная (в каждой группе по 10 животных). Спустя 30 сут. после заражения вычисляли показатели выживаемости животных. Статистический анализ результатов экспериментов осуществляли по Фишеру—Стьюденту [19]. Проведение экспериментов на беспородных белых мышках по данному направлению исследований было одобрено этическим комитетом Волгоградского научно-исследовательского противочумного института.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ранее проведенных исследованиях нами были испытаны препараты рекомбинантных цитокинов (ингарон, беталейкин, ронколейкин), тиопозтинов (глутоксим) и синтетических пептидов (имунофан, бестим) на предмет их способности повышать уровень природной резистентности животных к мелиоидозу. Было показано, что наиболее активными в этом отношении оказались препараты глутоксим, бестим и имунофан, которые обладали способностью повышать резистентность мышей к мелиоидозу (увеличение выживаемости и средней продолжительности жизни) в большинстве испытанных схем их применения [20]. Эти препараты были использованы нами для сочетанного применения с антибиотиком доксициклином, входящим в перечень антибактериальных препаратов, рекомендованных для экстренной профилактики мелиоидозной инфекции.

Результаты опыта по совместному использованию в схеме экстренной профилактики мелиоидозной инфекции доксициклина и иммуномодуляторов бестима, имунофана и глутоксима приведены в таблице 1.

Таблица 1 / Table 1

**Влияние иммуномодуляторов на экстренную профилактику мелиоидоза у мышей / Influence of immunomodulators on emergency prophylaxis of melioidosis in mice**

№	Препараты / Preparations	Доза ИМ (мкг) / The dose (mg)	Схема введения ИМ / Scheme of administration of immunomodulator	Схема введения антибиотика / The scheme of antibiotic administration	Выживаемость при заражении <i>B. pseudomallei</i> C-141 5 ЛД <sub>50</sub> / Survival on infection <i>B. pseudomallei</i> C-141 5 LD <sub>50</sub>		
					выжило/взято / survived/taken	% выживших / % Survivors	СПЖ (сут.) / average life expectancy (days)
1	Доксициклин + имунофан / Doxycycline + imunofan	0,06	-1, +1	+1, +2, +3	7/10	70	28,3 ± 3,2*
2	Доксициклин + бестим / Doxycycline + bestim	0,6	-1, +1	+1, +2, +3	6/10	60	24,5 ± 2,7*
3	Доксициклин + глутоксим / Doxycycline + glutoxime	45	-1, +1	+1, +2, +3	5/10	50	22,6 ± 2,1*
4	Доксициклин / Doxycycline	—	—	+1, +2, +3	5/10	50	17,4 ± 1,6
5	Контроль (интактные) / Control (intact)	—	—	—	2/10	20	13,9 ± 1,7

Примечание: \*различия достоверны по отношению к группе мышей, получавших доксициклин (p < 0,05) / Note: \*The differences are significant in relation to the group of mice receiving doxycycline (p < 0.05).

Отмечено, что использование доксициклина в течение 3 дней после заражения защищало 50% мышей от 5 ЛД<sub>50</sub> *B. pseudomallei* C-141. Комбинация доксициклина с имунофаном повышала выживаемость мышей на 20% и достоверно увеличивала сроки СПЖ ( $p < 0,05$ ). Менее эффективным было сочетанное действие доксициклина и бестима (повышение выживаемости на 10% и увеличение СПЖ,  $p < 0,05$ ), доксициклина и глутоксима (только увеличение СПЖ,  $p < 0,05$ ). Резюмируя полученные результаты, следует отметить, что в сравнительном плане из трех испытанных ИМ наиболее активным препаратом, улучшающим результаты антибиотикотерапии мелиоидоза, оказался имунофан.

В следующем опыте было оценено влияние длительности применения имунофана на результаты экстренной профилактики мелиоидоза доксициклином. Для выявления иммуномодулирующего эффекта имунофана лечебная доза антибиотика была существенно снижена (до 30 мкг в сутки). Полученные результаты отражены в таблице 2.

Как видно из приведенных данных, двукратное применение имунофана совместно с антибиотиком уступает по эффективности его семикратному применению. В условиях резкого снижения лекарственной дозы доксициклина с 2 мг в сутки до 30 мкг, а также более чем двукратного повышения заражающей дозы возбудителя мелиоидоза (с 5 до 12 ЛД<sub>50</sub>), выживаемость в группе мышей, получавшей только антибиотик, была низкой (8%). При добавлении к этой лечебной схеме имунофана (двукратное применение) процент выживших животных увеличился до 25%, а при семикратном введении иммуномодулятора в сочетании с тем же 3-дневным курсом антибиотика выживаемость животных уже составляла 33%, и при этом отмечено существенное увеличение показателя СПЖ по сравнению с группой, получавшей только доксициклин ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, нами показана целесообразность семидневного применения синтетического аналога гормона тимуса имунофана в сочетании со стандартной терапией антибиотиком при экстренной профилактике мелиоидозной инфекции в экспериментальных условиях.

Таблица 2 / Table 2

**Эффективность экстренной профилактики мелиоидоза  
в зависимости от продолжительности применения иммуномодулятора /  
Effectiveness of emergency prevention of melioidosis  
depending on the frequency of immunomodulatory application**

№	Препараты / Preparations	Схема введения иммуномодулятора / Scheme of administration of immunomodulator	Схема ведения антибиотика / Scheme of antibiotic management	Летальность при заражении <i>B. pseudomallei</i> C-141 12 ЛД <sub>50</sub> / Mortality in case of <i>B. pseudomallei</i> C-141 infection 12 LD <sub>50</sub>		
				Пало/взято / died/taken	% павших / % of deaths	СПЖ (сут.) / average life expectancy (days)
1	Доксициклин+ имунофан / Doxycycline + imunofan	-1, +1	+1, +2, +3	9/12	75	15,4 ± 2,6
2	Доксициклин + имунофан / Doxycycline + imunofan	-1, +1, +2, +3, +4, +5, +6	+1, +2, +3	8/12	67	16,9 ± 2,1*
3	Доксициклин / Doxycycline	—	+1, +2, +3	11/12	92	11,2 ± 1,7
4	Контроль (интактные) / Control (intact)	—	—	10/10	100	9,1 ± 1,5

*Примечание:* суточная доза доксициклина — 30 мкг; \*различия достоверны по сравнению с группой мышей, получавших только доксициклин ( $p < 0,05$ ) /

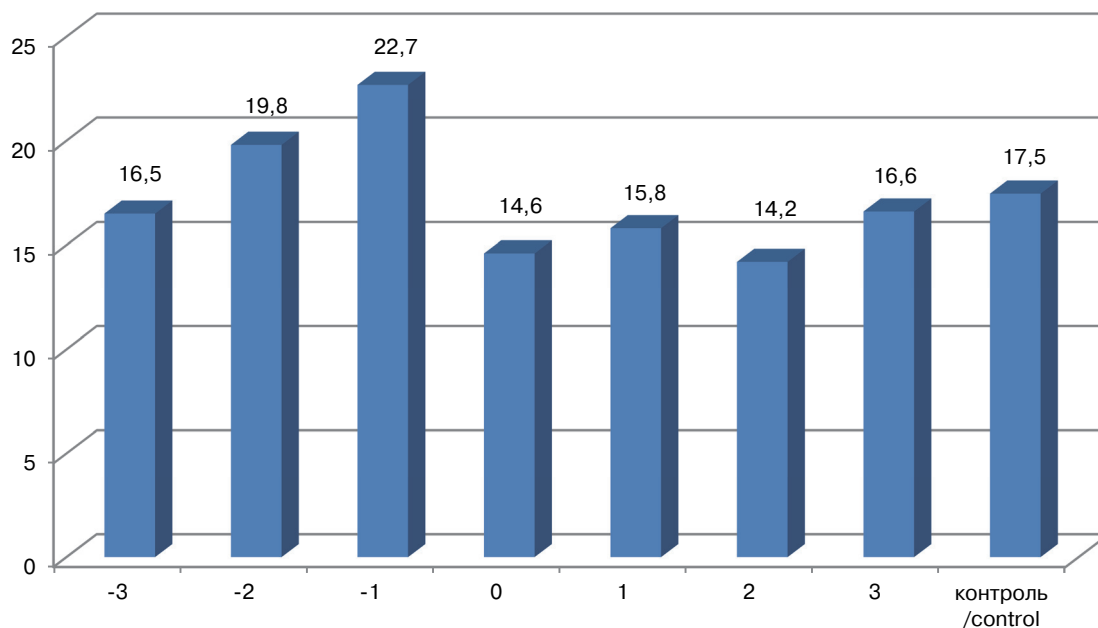
*Note:* daily dose of doxycycline is 30 mg; \*the differences are significant in comparison with the group of mice receiving only doxycycline ( $p < 0.05$ ).

**Эффективность экстренной профилактики мелиоидоза при использовании гетерологичных вакцин /  
Effectiveness of emergency prevention of melioidosis with heterologous vaccines**

№	Препараты / Preparations/	Схема введения вакцины / Scheme of vaccine introduction	Схема введения антибиотика / The scheme of antibiotic administration	Выживаемость при заражении <i>B. pseudomallei</i> C-141 6 ЛД <sub>50</sub> / Survival on infection <i>B. pseudomallei</i> C-141 6 LD <sub>50</sub>		
				выжило/взято/ survived/taken	% выживших / % Survivors	СПЖ, сут. / average life expectancy (days)
1	Чумная вакцина / Plague vaccine	-1	—	9/10	90	5,0
2	Чумная вакцина / Plague vaccine	-3	—	6/10	60	17,0 ± 1,9
3	Туляремиальная вакцина / Tularemia vaccine	-1	—	5/10	50	18,8 ± 1,8
4	Туляремиальная вакцина / Tularemia vaccine	-3	—	8/10	80	17,5 ± 2,9
5	Доксициклин / Doxycycline	—	+1, +2, +3	9/10	90	18,0
6	Контроль (интактные) / Control (intact)	—	—	2/10	20	14,0 ± 2,6

*Примечание.* Дозы: чумной вакцины —  $10^6$  м. кл.; туляремиальной вакцины —  $10^2$  м. кл.; доксициклина 2 мг (суточная) /  
*Note.* Doses: plague vaccine —  $10^6$  microbial cells, of tularemia vaccine —  $10^2$  microbial cells, of doxycycline 2 mg (daily).

Средняя продолжительность жизни, сут. /  
average life expectancy (days)



**Рис. 1.** Эффективность чумной вакцины при экстренной профилактике в зависимости от схемы ее применения  
*Примечание:* по оси абсцисс — схема введения чумной вакцины относительно дня заражения («0»): (-3, -2, -1 — за 3, 2, 1 сут. до заражения, +1, +2, +3 — на 1, 2, 3 сут. после заражения), контроль (доксициклин, 2 мг/сут) /

**Fig. 1.** Effectiveness of plague vaccine in case of emergency prophylaxis depending on the regimen of its use  
*Note:* on the abscissa axis is the scheme for administering the plague vaccine relative to the day of infection ("0"): (-3, -2, -1 — for 3, 2, 1 days before infection, +1, +2, +3 — 1, 2, 3 days after infection), control (doxycycline, 2mg/daily)

При испытании эффективности двух гетерологических вакцин (чумной и туляреминой), вводимых по двум схемам («-1» и «-3»), по сравнению с доксициклином, применявшимся в течение 3 сут. после заражения, было показано, что однократное введение чумной вакцины за 1 сут. до заражения (схема «-1») защищало 90% животных от 6 ЛД<sub>50</sub> вирулентной культуры возбудителя мелиоидоза (табл. 3).

Такой же уровень защиты обеспечивал и 3-дневный курс антибиотикотерапии доксициклином.

Введение мышам вакцины EV за 3 сут. до заражения (схема «-3») обеспечивало 60% защиту, применение туляреминой вакцины за 1—3 сут. до заражения защищало 50—80% животных. Использование туляреминой вакцины в качестве средства экстренной профилактики в последующих наших опытах не дало стабильных положительных результатов, что, скорее всего, связано с высокой остаточной вирулентностью и повышенной реактогенностью вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ [21].

На белых мышах была оценена протективность вакцины EV в зависимости от сроков ее введения мышам относительно дня контрольного заражения мелиоидозом. Чумную вакцину вводили однократно за 1, 2, 3 сут. до заражения, в день заражения и на 1, 2, 3 сут. после заражения 15 ЛД<sub>50</sub> возбудителя мелиоидоза. Наиболее существенный защитный эффект чумной вакцины отмечен при ее введении за 1 сут. до заражения — 60% выживших, такой же уровень защиты зарегистрирован в группе животных, получавших в течение 3 дней доксициклин (2 мг в сут). Использование вакцины EV за 1 сут. до заражения приводило также к достоверному повышению сроков СПЖ ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

Введение чумной вакцины за 2 сут. до заражения 15 ЛД<sub>50</sub> возбудителя мелиоидоза предотвращало гибель 40% мышей, 3 сут. до заражения — 30%, применение чумной вакцины в день заражения мелиоидозом защищало 30% животных. Если вакцина EV вводилась после заражения

возбудителем мелиоидоза, уровень защиты от мелиоидозной инфекции был низким — 10%.

Таким образом, проведенные эксперименты показали, во-первых, целесообразность включения имунофана в схему экстренной профилактики мелиоидоза, и, во-вторых, преимущества семикратного введения животным имунофана по сравнению с двукратным его применением.

Нами выявлена эффективность использования для стимуляции неспецифической резистентности к мелиоидозу гетерологичной чумной вакцины EV, наибольший защитный эффект которой отмечен при условии ее введения животным за 1 сут. до заражения возбудителем мелиоидоза.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Следует отметить, что способностью увеличивать резистентность к мелиоидозу в наших опытах обладали препараты, преимущественно воздействующие на Т-систему иммунитета. Доминирующая роль Т-клеток в иммунитете против мелиоидоза отмечена многими авторами. На самых ранних стадиях мелиоидозной инфекции зарегистрирована выраженная продукция ИФН- $\gamma$  от НК-клеток и обычных Т-клеток при участии ИЛ-12 и ИЛ-18, а в антигениндуцированную фазу инфекции основную защитную роль играют CD4 Т-клетки, обеспечивающие специфический иммунный ответ клеточного типа [22]. По мнению P. Santanirand et al. [23], резистентность к острой мелиоидозной инфекции в определяющей степени зависит от степени продукции ИФН- $\gamma$ , которая, в свою очередь, непосредственно связана с функциональным состоянием различных субпопуляций Т-клеток.

Использованные нами синтетические аналоги тимических гормонов бестим и имунофан усиливают дифференцировку и пролиферацию предшественников Т-лимфоцитов [24, 25]. Более высокая способность имунофана повышать резистентность к мелиоидозу у мышей по сравнению с бестимом и глутоксимом, по-видимому, связана с его более широким спектром неспецифического иммуностимулирующего действия.

Помимо стимуляции пролиферации предшественников Т-лимфоцитов имунофан в первые 3 сут. применения во время начальной, быстрой фазы своего действия, проявляет выраженный детоксикационный эффект: усиливает продукцию церулоплазмينا, лактоферрина, повышает активность каталазы, нормализует перекисное окисление липидов, ингибирует распад фосфолипидов клеточной мембраны и синтез арахидоновой кислоты с последующим снижением продукции медиаторов воспаления. При инфекционном поражении печени препарат предотвращает цитолиз, снижает активность трансаминаз и уровень билирубина в сыворотке крови.

Начиная с 2—3 сут. приема и до 7—10 сут. проявляется средняя фаза действия имунофана, характеризующаяся усилением реакций фагоцитоза и гибелью внутриклеточных бактерий и вирус. При этом имунофан способствует снижению уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  и восстановлению нормальной концентрации большинства белков острой фазы воспаления [11].

Выявленное нами протективное действие чумной вакцины, примененной в режиме экстренной профилактики экспериментального мелиоидоза, вероятно, является суммарным эффектом, включающим в себя прежде всего способность вакцины быстро мобилизовать неспецифические защитные механизмы иммунитета, а в более поздние сроки защитное действие вакцины, вероятно, дополняется специфическими компонентами за счет общих антигенов *Y. pestis* и *B. pseudomallei*. Во всех цитированных выше работах протективный эффект гетерологичных вакцин при мелиоидозе регистрировался по истечении довольно продолжительного вакцинального периода (2—3 недели) и ассоциировался с формированием иммунного ответа к перекрестно-реагирующим антигенам. Ни одна из этих вакцин не была применена в экспериментах на животных в режиме экстренной профилактики, т.е. непосредственно перед заражением мелиоидозом или в первые дни после него.

Таким образом, живая чумная вакцина при ее введении животным до заражения мелиоидозом способна выступать как самостоятельное средство экстренной профилактики мелиоидозной инфекции, сравнимое по эффективности с традиционной антибиотикотерапией. В данных условиях эксперимента протективное действие гетерологичной чумной вакцины основывается, главным образом, на ее способности стимулировать неспецифические факторы иммунитета, поскольку для специфического иммунного ответа (образование антител к перекрестно-реагирующим антигенам и накопление пула специфичных к этим антигенам Т-лимфоцитов-эффекторов) необходимо более длительное время (2—3 недели).

## ВЫВОДЫ

1. Включение синтетического аналога гормонов тимуса имунофана в схему экстренной профилактики экспериментального мелиоидоза антибиотиком доксициклином повышает выживаемость и среднюю продолжительность жизни животных.

2. Использование для стимуляции неспецифической резистентности мышей к мелиоидозу гетерологичной чумной вакцины EV в режиме экстренной профилактики позволяет получить защитный эффект, сравнимый с курсом антибиотикотерапии.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Илюхин В.И., Сенина Т.В., Трушкина М.Н., Шубникова Е.В., Антонов Ю.В., Андропова Н.В. Проблемы соответствия антибиотикочувствительности *in vitro* и эффективности химиотерапии инфекций, вызванных патогенными буркхольдериями // Антибиотики и химиотерапия. 2009. № 7—8. С. 19—23.
2. Экстренная профилактика и лечение опасных инфекционных болезней: Методические рекомендации / под общ. ред. В.В. Малеева. М., 2009. 128 с.
3. David Dance. Treatment and prophylaxis of melioidosis // Int J Antimicrob Agents. 2014. № 43(4). P. 310—318.
4. Батманов В.П., Илюхин В.И., Лозовая Н.А., Алексеев В.В. Экстренная профилактика заболеваний, вызванных вероятными бактериальными агентами биотерроризма // Санитарная охрана территорий государств-участников СНГ: проблемы биобезопасности и противодействия биотерроризму в современных условиях: Матер. IV межгосударственной науч.-практич. конф. государств-участников СНГ. Волгоград, 2005. С. 202—203.



5. Жукова С.И., Антонов В.А., Демьянова О.Б., Абдрахманова Р.О. Проблема экстренной профилактики инфекционных болезней (обзор) // *Волгоград научн-мед журн*. 2015. № 1 (45). С. 24—31.
6. Сенцова Т.Б. Современные иммуномодуляторы // *Справочник поликлинического врача*. 2004. № 5. С. 27.
7. Бондарева Т.А., Поярков А.Ю., Вахнов Е.Ю. Использование полиоксидония в комплексном лечении генерализованных форм экспериментальной чумы // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009. № 99. С. 67—69.
8. Коготкова О.И., Буравцева Н.П., Юркевич Ю.В., Андропова Т.М. Способ экстренной профилактики сибиреязвенной инфекции у лабораторных животных. Патент № 2050857. 1995.
9. Канатбаев С.Г., Тен В.Б., Туяшев Е.К., Нысанов Е.С. Использование иммуномодуляторов при бруцеллезе животных // *Ветеринария сегодня*. 2013. № 3. С. 45—48.
10. Безпалько О.Р., Зиганин И.И., Долгушин В.Л., Рышков А.А., Колобов А.А., Симбирцев А.С. Бестим и беталейкин в комплексной терапии хронической гонококковой инфекции мочеполовых органов у женщин // *Цитокины и воспаление*. 2008. Т. 7. № 4. С. 58—62.
11. Кузник Б.И., Цыбиков М.Н., Лиханов И.Д., Борщевский В.С., Целев В.Л., Масло Е.Ю., Цыбиков Н.Н. Действие имунофана на уровень провоспалительных цитокинов и показатели системной воспалительной реакции у больных с острым гнойным перитонитом // *Анналы хирургии*. 2012. № 3. С. 30—33.
12. Островская П.Ю., Флак Г.А., Корсунская И.М., Сюч Н.И. Глутоксим в комплексной терапии урогенитальных инфекций у пациентов репродуктивного возраста // *Вестник Санкт-Петербургского университета*. Серия: медицина. 2011. № 2. С. 139—146.
13. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Андропова Т.М. Отечественные иммуотропные лекарственные средства последнего поколения и стратегия их применения // *Фармакология*. 2002.
14. Немировская Т.И., Ковтун В.П., Абрамцева М.В., Александрова Н.В., Тарасов А.П., Салахова Р.Д., Волков В.А., Меркулов В.А. Иммуномодуляторы бактериальной природы, зарегистрированные в Российской Федерации // *Биопрепараты*. 2014. № 3. С. 19—26.
15. Илюхин В.И., Викторов Д.В., Пивень Н.Н., Абраменко А.В., Тимошин В.Б. Перекрестно-реагирующие антигены патогенных буркхольдерий и некоторых опасных возбудителей инфекционных болезней // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2005. № 2. С. 14—19.
16. Манзенюк И.Н., Танина Е.А., Дорохин В.В., Калачев И.Я., Борзенков В.Н., Светоч Э.А. *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*. Изучение иммунопатогенеза сапа и мелиоидоза. Гетерологичные вакцины // *Антибиотики и химиотерапия*. 1999. № 6. С. 21—26.
17. Плеханова Н.Г., Алексеев В.В., Илюхин В.И., Сенина Т.В., Тихонов С.Н., Перепелицына С.В. Перспективы применения *Burkholderia thailandensis* и *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ для иммунизации при буркхольдериязах // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2004. № 2. С. 56—57.
18. Илюхин В.И., Кисличкин Н.Н., Плеханова Н.Г., Сенина Т.В., Становая О.В. Экспериментальное обоснование возможности применения туляремийной живой вакцины для повышения резистентности к гетерологичным инфекционным заболеваниям // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2005. № 2. С. 38—42.
19. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962. С. 180.
20. Лебедева И.А., Топорков А.В., Жукова С.И., Ротов К.А., Снатенков Е.А. Синтетические пептиды и рекомбинантные цитокины в схеме экстренной профилактики экспериментального мелиоидоза // *Цитокины и воспаление*. 2016. Том 15. № 2. С. 181—185.
21. Комбарова Т.И., Павлов В.М., Кравченко Т.Б., Титарева Г.М., Бахтеева И.В., Борзилов А.И., Коробова О.В., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Мокриевич А.Н. Сравнительная оценка реактивности туляремийной вакцины на различных биомоделях // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013. Т. 71. № 4. С. 54—62.
22. Haque A., Easton A., Smith D., O'Garra A., Van Rooijen N., Lertmemongkolchai G., Titball R.W., Bancroft G.J. Role of T-cells in innate and adaptive immunity against murine *Burkholderia pseudomallei* infection // *J. Infect. Dis.* 2006. Vol. 193. № 3. P. 370—379.
23. Santanirand P., Harley V.S., Dance D.A., Drasar B.S., Bancroft G.J. Obligatory role of gamma interferon for host survival in a murine model of infection with *Burkholderia pseudomallei* // *Infect. Immun.* 1999. Vol. 67. № 7. P. 3593—3600.
24. Караулов А.В. Клинико-иммунологическая эффективность применения имунофана при оппортунистических инфекциях // *Лечащий врач*. 2000. № 4. С. 52—55.
25. Петров А.В., Пигарева Н.В., Симбирцев А.С. Изучение действия иммуномодулятора бестима при пероральном введении на антигенспецифический иммунный ответ // *Матер. Межд. конгресса «Иммунитет и болезни: от теории к практике»* 3—7 окт. 2005. М., 2005. РАГС. С. 84—85.

Поступила 05.09.2018

Принята 14.09.2018

## EMERGENCY PROPHYLAXIS OF EXPERIMENTAL MELIOIDOSIS USING SYNTHETIC IMMUNOMODULATORS AND HETEROLOGOUS VACCINES

**I.A. Khabarova, S.I. Zhukova, K.A. Rotov, E.A. Snatenkov,  
A.V. Toporkov, D.V. Viktorov**

Volgograd Research Institute for Plague Control, Volgograd, Russia

**Abstract.** Melioidosis is a particularly dangerous infection caused by *Burkholderia pseudomallei*, against which a vaccine has not yet been created. In this regard, the development of effective treatment regimens and emergency prevention of melioidosis is very relevant. To improve the effectiveness of emergency prophylaxis of melioidosis, synthetic peptides (bestim, imunofan) and thiopoietin preparation glutoxim were used when combined with the antibiotic doxycycline. In addition, in experiments on white mice, the ability of heterologous vaccines (plague and tularemia), used in the emergency prevention mode, to increase the resistance of animals to melioidosis infection was assessed. It was shown that the most effective was imunofan, which, when combined with doxycycline, increased by 20% the survival rate of 5LD<sub>50</sub> *Burkholderia pseudomallei* infection and significantly increased the average life span of mice infected with 5—12 LD<sub>50</sub> ( $p < 0.05$ ). The efficiency of use for stimulation of non-specific resistance to melioidosis of a heterologous plague vaccine EV, once administered 1 day prior to infection, protected 90% of mice from 6 LD<sub>50</sub> *Burkholderia pseudomallei* and 60% — with an increase in the infectious dose of the pathogen of melioidosis up to 15 LD<sub>50</sub>. The same level of protection from melioidosis was provided by a 3 day course of antibiotic therapy with doxycycline. It was concluded that the tularemia vaccine is not suitable for immunostimulation in melioidosis due to its high residual virulence and reactogenicity.

**Key words:** melioidosis, immunity, emergency prophylaxis, synthetic immunomodulators, imunofan, heterologous vaccines

### *Correspondence Author:*

Zhukova Svetlana Ivanovna, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 400131, Volgograd, ul. Golubinskaya, 7. E-mail: svetlana25.01@yandex.ru SPIN 9447-2181, ORCID 0000-0001-6271-8390

Khabarova I.A. SPIN7269-3722, ORCID 0000-0003-1767-7790

Toporkov A.V. SPIN 4097-8232, ORCID 0000-002-3449-4657

Viktorov D.V. SPIN 6356-5876, ORCID 0000-0002-2722-7948

Rotov K.A. SPIN 4852-5591

Snatenkov E.A. SPIN 6760-7478, ORCID 0000-0001-5692-1229

### REFERENCES

1. Ilyukhin V.I., Senina T.V., Trushkina M.N., Shubnikova E.V., Antonov Yu. V., Andronova N.V. Problems of the correspondence of antibiotic susceptibility in vitro and the effectiveness of chemotherapy of infections caused by pathogenic burkholderia. *Antibiotics and chemotherapy*. 2009. No. 7—8. P. 19—23.
2. Emergency prevention and treatment of dangerous infectious diseases. (Under the general editorship of academic RAMS Maleev V.V.) Methodical recommendations. M., 2009. 128 c.
3. David Dance. Treatment and prophylaxis of melioidosis. *Int J Antimicrob Agents*. 2014. No. 43 (4). P. 310—318.
4. Batmanov V.P., Ilyukhin V.I., Lozovaya N.A., Alekseev V.V. Emergency prevention of diseases caused by probable bacterial agents of bioterrorism. *Sanitary protection of the territories of the CIS member states: problems of biosafety and counteracting bioterrorism in modern conditions: Mater. IV interstate scientific-practical. Conf. of the CIS member states*. Volgograd, 2005. P. 202—203.
5. Zhukova S.I., Antonov V.A., Demyanova O.B., Abdrakhmanova R.O. The problem of emergency prophylaxis of infectious diseases (review). *Volgograd scientific-medical journal*. 2015. No. 1 (45). P. 24—31.
6. Sentsova T.B. Modern immunomodulators. *Handbook of a polyclinic*. 2004. No. 5. P. 27.
7. Bondareva T.A., Poyarkov A.Yu., Vakhnov E.Yu. The use of polyoxidonium in the complex treatment of generalized forms of experimental plague. *Problems of especially dangerous infections*. 2009. No. 99. P. 67—69.

8. Kogotkova O.I., Buravtseva N.P., Yurkevich Yu.V., Andronova T.M. A method for emergency prevention of anthrax infection in laboratory animals. Patent No. 2050857. 1995.
9. Kanatbaev S.G., Ten V.B., Tuyashev E.K., Nysanov E.S. The use of immunomodulators in animal brucellosis. *Veterinary Today*. 2013. № 3. P. 45—48.
10. Bezpalko O.R., Ziganshin I.I., Dolgushin V.L., Ryskov A.A., Kolobov A.A., Simbirtsev A.S. Bestim and betaleukin in complex therapy of chronic gonococcal infection of the urogenital organs in a woman. *Cytokines and inflammation*. 2008. Т. 7. № 4. P. 58—62.
11. Kuznik B.I., Tsybikov M.N., Likhanov I.D., Borshchevsky V.S., Tsepelev V.L., Maslo E.Yu., Tsybikov N.N. Effect of imunofan on the level of proinflammatory cytokines and indices of systemic inflammatory reaction in patients with acute purulent peritonitis. *Annals of surgery*. 2012. № 3. P. 30—33.
12. Ostrovskaya P.Yu., Flax G.A., Korsunskaya I.M., Syuch N.I. Glutoxim in the complex therapy of urogenital infections in patients of reproductive age. *Bulletin of St. Petersburg University. Series: medicine*. 2011. № 2. P. 139—146.
13. Khaitov R.M., Pinegin B.V., Andronova T.M. Domestic immunotropic drugs of the latest generation and the strategy of their use. *Pharmacology*. 2002.
14. Nemirovskaya T.I., Kovtun V.P., Abramtseva M.V., Aleksandrova N.V., Tarasov A.P., Salakhova R.D., Volkov V.A., Merkulov V.A. Immunomodulators of bacterial nature registered in the Russian Federation. *Biopreparations*. 2014. № 3. P. 19—26.
15. Ilyukhin V.I., Viktorov D.V., Piven N.N., Abramenko A.V., Timoshin V.B. Cross-reacting antigens of pathogenic burkholderia and some dangerous pathogens of infectious diseases. *Journal of Microbiology, Epidemiologists and Immunobiology*. 2005. № 2. P. 14—19.
16. Manzenyuk I.N., Tanina E.A., Dorokhin V.V., Kalachev I.Ya., Borzenkov V.N. Svetoch E.A. Burkholderia mallei and Burkholderia pseudomallei. The study of immunopathogenesis of glanders and melioidosis. Heterologous vaccines. *Antibiotics and chemotherapy*. 1999. № 6. P. 21—26.
17. Plekhanova N.G., Alekseev V.V., Ilyukhin V.I., Senina T.V., Tikhonov S.N., Perepelitsyna S.V. Prospects for the use of Burkholderia thailandensis and Francisella tularensis 15 NIIEG for immunization with burkchlderiosis. *Problems of especially dangerous infections*. 2004. № 2. P. 56—57.
18. Ilyukhin V.I., Kislichkin N.N., Plekhanova N.G., Senina T.V., Stanova O.V. Experimental substantiation of the possibility of using tularemia live vaccine to increase resistance to heterologous infectious diseases. *Journal of Microbiology, Epidemiologists and Immunobiology*. 2005. № 2. P. 38—42.
19. Ashmarin I.P., Vorobiev A.A. Statistical methods in microbiological studies. L., 1962. P. 180.
20. Lebedeva I.A., Toporkov A.V., Zhukova S.I., Rotov K.A., Snatenkov E.A. Synthetic peptides and recombinant cytokines in the scheme of emergency prophylaxis of experimental melioidosis. *Cytokines and inflammation*. 2016. Vol. 15. № 2. P. 181—185.
21. Kombarova T.I., Pavlov V.M., Kravchenko T.B., Titareva G.M., Bakhteeva I.V., Borzilov A.I., Korobova O.V., Vakhrameeva G.M., Mironova R.I., Mokrieovich A.N. Comparative evaluation of reactivity of tularemia vaccine on various biomodels. *Epidemiology and vaccine prevention*. 2013. Vol. 71. № 4. P. 54—62.
22. Haque A., Easton A., Smith D., O'Garra A., Van Rooijen N., Lertmemongkolchai G., Titball R.W., Bancroft G.J. Role of T-cells in innate and adaptive immunity against murine Burkholderia pseudomallei infection. *J. Infect. Dis.* 2006. Vol. 193. No. 3. P. 370—379.
23. Santanirand P., Harley V.S., Dance D.A., Drasar B.S., Bancroft G.J. Obligatory role of gamma interferon for host survival in a murine model of infection with Burkholderia pseudomallei. *Infect. Immun.* 1999. Vol. 67. No. 7. P. 3593—3600.
24. Karaulov A.V. Clinical and immunological efficacy of imunofan in opportunistic infections. *The attending physician*. 2000. № 4. P. 52—55.
25. Petrov A.V., Pigareva N.V., Simbirtsev A.S. The study of the action of the immunomodulator is topical when administered orally to an antigen-specific immune response. *Mater. Int. Congress "Immunity and Disease: from theory to practice" 3—7 Oct 2005*. 2005, RAGS. P. 84—85.

Received 05.09.2018

Accepted 14.09.2018