

ЛИЦЕНЗИРОВАННЫЕ СИБИРЕЯЗВЕННЫЕ ВАКЦИНЫ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА СТАДИИ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

Высокая патогенность возбудителя сибирской язвы в сочетании с уникальной устойчивостью спорных форм к воздействию факторов внешней среды ставят его в разряд крайне опасных биологических агентов. Зарегистрированные и успешно применяемые сибиреязвенные вакцины внесли неоценимый вклад в улучшение эпидемиологической ситуации в мире. Тем не менее, пренебрежение к мерам специфической профилактики может привести к драматическому развитию событий и потребовать проведения масштабных мероприятий по ликвидации последствий. Усилия по разработке вакцин нового поколения направлены на увеличение безопасности, уменьшение кратности введения и совершенствованию технологии производства. В обзоре представлены основные сведения о лицензированных сибиреязвенных вакцинах, предназначенных для медицинского применения на территории Российской Федерации и за рубежом. Среди многочисленных экспериментальных разработок внимание уделено перспективным препаратам, производимым различными биофармацевтическими компаниями в соответствии со стандартами GMP и проходившим в 2016 г. различные фазы клинических исследований.

Журн. микробиол., 2017, № 4, С. 112—126

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, сибирская язва, сибиреязвенные вакцины, лицензированные вакцины, клинические исследования

N.I.Mikshish, P.Yu.Popova, A.P.Semakova, V.V.Kutyrev

LICENSED ANTHRAX VACCINES AND EXPERIMENTAL PREPARATIONS AT THE STAGE OF CLINICAL TRIALS

Russian Research for Plague Control Institute «Microb», Saratov, Russia

High pathogenicity of anthrax agent combined with unique insensitivity of its spore forms to environmental stresses class it among extremely dangerous biological agents. Registered and effectively used anthrax vaccines made invaluable contribution to the improvement of epidemiological situation around the world. Nevertheless, neglect of non-specific prophylaxis may result in dramatic scenarios and require large-scale measures on rectification of the consequences. Efforts on the development of next-generation vaccines are aimed at safety build-up, decrease in frequency of administration, and enhancement of manufacturing technologies. The review contains the key information on licensed anthrax vaccines designed for medical use, both in the territory of the Russian Federation and abroad. Among multiple experimental developments emphasized have been preparations manufactured by various bio-pharmaceutical companies in compliance with GMP standards, at different phases of clinical trials in 2016.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 4, P. 112—126

Key words: *Bacillus anthracis*, anthrax, anthrax vaccine, licensed vaccine, clinical trials

Современный ареал сибирской язвы сельскохозяйственных и диких животных охватывает почти все континенты. Причиной заболевания людей традиционно является контакт с заболевшим животным в процессе ухода за больным животным, вынужденного убоя и разделки туши. Один из факторов риска — широкое распространение стационарно неблагополучных по сибир-

ской язве пунктов. Не исключена вероятность возникновения чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения при совершении биотеррористических актов [28], при ввозе в страну инфицированных спорами сибиреязвенного микроба продуктов или сырья. Ежегодно в Российской Федерации регистрируют от 1 до 20 случаев заболеваний людей сибирской язвой [14]. В 2016 г. в Ямало-Ненецком автономном округе возник очаг сибирской язвы, сформировавшийся на фоне крупной эпизоотии среди оленей. Особенности природно-климатических условий лета 2016 года в сочетании с тактическими просчетами в анализе риска развития эпизоотической ситуации привели к быстрому распространению инфекции (пало более 2500 оленей) и осложнению эпидемической обстановки. Для ликвидации последствий потребовались масштабные и дорогостоящие мероприятия [22]. В рамках проводимых мероприятий химиофилактикой были охвачены 946 человек, привиты против сибирской язвы более 13 тысяч человек.

Проведение противосибиреязвенной вакцинации декретированного контингента позволяет значительно снизить риск возникновения и распространения особо опасной инфекционной болезни. Специфическая профилактика сибирской язвы на территории Российской Федерации осуществляется в соответствии с Национальным календарем прививок по эпидемическим показаниям. Для этого используется живая вакцина на основе аттенуированного штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1 [16]. Живую сибиреязвенную вакцину на основе штамма *B. anthracis* A16R применяют в Китае. В США и Великобритании лицензированы химические вакцины — AVA и AVP соответственно [30]. Плановая вакцинация живой или химическими вакцинами показана персоналу лабораторий, работающих с возбудителем сибирской язвы, а также специальному контингенту, риск инфицирования которого можно оценить. В стационарно-неблагополучных районах она проводится работникам ветеринарной службы и лицам групп риска, контактирующим с продуктами животноводства.

Вакцина сибиреязвенная живая сухая СТИ-1. Основу живой сибиреязвенной вакцины составляет штамм *B. anthracis* СТИ-1. Штамм был получен в 1940 г. Н.Н. Гинсбургом на научной базе Санитарно-технического института (ныне 48 Центрального НИИ МО). Выращивая на свернутой нормальной лошадиной сыворотке культуру вирулентного штамма *B. anthracis* «Красная Нива», выделенного в 1934 г. от лошади на Орловской биофабрике, Н.Н. Гинсбург селективировал вариант, не способный образовывать капсулу [10].

Капсула возбудителя сибирской язвы представляет собой монотонный линейный полимер γ -D-глутаминовой кислоты. В инфицированном организме она предохраняет патогенный микроорганизм от неспецифических и специфических защитных реакций, препятствует фагоцитозу. За образование капсулы отвечают структурные и регуляторные гены, входящие в состав плазмиды рХО2: *capB*, *capC*, *capA*, *capE*, *capD*, *der*, *acrA* и *acrB*. В вакцинном штамме *B. anthracis* СТИ-1 (рХО1⁺рХО2⁻) произошла спонтанная элиминация плазмиды рХО2, его геном представлен хромосомой и плазмидой рХО1. Плазмида рХО1 включает детерминанты синтеза компонентов экзотоксина: отечного фактора (ген *суа*), летального фактора (ген *lef*) и протективного антигена (ген *раg*). Протективный антиген является основным иммуногеном сибиреязвенного микроба. В силу генетических особенностей штамм *B. an-*

thracis СТИ-1 не может вызывать инфекционный процесс в восприимчивом организме, но сохраняет иммуногенные свойства. Проведенное в последние годы полногеномное секвенирование штамма *B. anthracis* СТИ-1 подтвердило его структурную организацию [44]. С филогенетической точки зрения штамм относится к субгруппе А, MLVA кластеру А1, транс-евразийской SNP линии А. Вг.008/009.

В 1942 г. вакцину СТИ-1 начали применять для иммунизации животных. Еще через год была показана ее слабая реактогенность для населения. В 1944 г. вакцину СТИ-1 использовали при ликвидации вспышки особого опасного заболевания в войсках на территории Ирана и Румынии, начиная с 1951 г., Министерство здравоохранения рекомендует ее для иммунизации людей групп риска [10]. Лицензия на производство сибиреязвенной вакцины для скарификационного применения была получена в 1953 г., для подкожного введения — в 1959 г.

Крупномасштабные исследования препарата проводили на территории Молдавии (1951 — 1952 гг.) и Казахстана (1973 — 1975 гг.). На территории Казахской ССР были привиты около 150 тысяч человек. В первом случае эффективность живой вакцины СТИ-1 составила 75%, во втором — 84% [5]. По результатам испытаний было сделано заключение о высокой иммунологической эффективности и довольно низкой реактогенности вакцины *B. anthracis* СТИ-1.

В бывшем СССР производство вакцины осуществлялось в Тбилисском научно-исследовательском институте вакцин и сывороток. В 1992 г. организацию производства сибиреязвенных вакцин взяло на себя МО РФ. Трудности возникли в связи с обнаруженной гетерогенностью популяционного состава маточной культуры вакцинного штамма по иммуногенным и культурально-морфологическим свойствам. Клональный анализ с использованием ПЦР выявил мутационные изменения в гене *pag*, кодирующем синтез протективного антигена. Для повышения иммуногенности вакцинного штамма был применен метод пассажа штамма *B. anthracis* СТИ-1 на морских свинках с последующим высевам и отбором клонов, не содержащих структурных перестроек и способных эффективно экспрессировать ген *pag* [18, 19]. До двухтысячных годов ежегодно в учреждения системы Министерства здравоохранения и социального развития, а также Министерства обороны поступало от 30 000 до 50 000 комплектов вакцины сибиреязвенной живой.

В настоящее время вакцина представляет собой споры штамма *B. anthracis* СТИ-1, лиофилизированные в 10% водном растворе сахарозы. Производится в 48 Центральном НИИ МО РФ. Технология изготовления вакцины включает глубинное культивирование микроорганизма в жидкой питательной среде [21]. Выпускается в виде лиофилизата, из которого готовится суспензия для подкожного введения и накожного скарификационного нанесения. Регламентировано первичное двукратное введение вакцины в дозе 50 млн спор (подкожное введение) с интервалом 20 — 30 суток и последующие ежегодные ревакцинации. Доза вакцины для скарификационного применения составляет 500 млн спор в 0,05 мл. Внеплановую вакцинацию проводят подкожным способом.

Ранее вакциной СТИ-1 иммунизировали однократно. Однако проведенные исследования показали, что после однократного подкожного применения вакцины адаптивный иммунитет выявляется через месяц только у 50 — 60%

вакцинированных людей и сохраняется до 3 месяцев у 28 — 32%, а до 5 месяцев — только у 15% привитых. Исследование косвенных иммунологических тестов через 3 месяца после двукратной иммунизации живой споровой вакциной выявило от 75 до 80% лиц с высоким уровнем иммунитета, через 6 месяцев — от 55 до 60%, а через год — от 43 до 48%. Статистические данные середины семидесятых годов прошлого века свидетельствуют, что среди всех заболевших сибирской язвой от 6,4 до 27,7% составляли люди, привитые живой вакциной СТИ-1 [10].

Специфическую профилактику сибирской язвы проводят с четырнадцатилетнего возраста. Допустимые реакции на введение вакцины — гиперемия, небольшая болезненность, инфильтрат диаметром до 50 мм в месте инъекции. Общая реакция возникает редко в первые сутки после прививки и проявляется незначительным повышением температуры, недомоганием и головной болью. Иногда может наблюдаться повышение температуры тела до 38,5 °С и небольшое увеличение регионарных лимфатических узлов. Считается, что живая сибиреязвенная вакцина при регламентированной кратности введения создает напряженный иммунитет продолжительностью до 1 года.

Опубликованных данных о рандомизированных исследованиях живой сибиреязвенной вакцины немного. В клинических исследованиях вакцины при двукратной схеме общие реакции средней и слабой степени тяжести наблюдались в 1,5% случаев. Тяжелых поствакцинальных осложнений и утраты трудоспособности зарегистрировано не было. У некоторых добровольцев повышение температуры тела возникало через 9 — 12 часов после вакцинации, достигало максимума через 24 часа и полностью исчезало к 48 часам. Местные реакции проявлялись в виде слабых отеков, гиперемии и умеренной болезненности в месте введения вакцины. Клиническое обследование привитых людей не выявило стрессового и аллергизирующего воздействия препарата на организм. За длительный период применения живой сибиреязвенной вакцины не было сообщений о возникновении тяжелых побочных эффектов [9, 48]. Следует отметить, что систематической отчетности о здоровье лиц, подлежащих вакцинации живой сибиреязвенной вакциной, в доступных источниках не приводится.

В работах, посвященных изучению влиянию препарата на иммунореактивность организма человека, установлено, что в ответ на введение живой сибиреязвенной вакцины у привитых (в исследовании участвовали около 60 добровольцев) происходит иммунологическая перестройка, которая проявляется в достоверном повышении уровня содержания в крови Т-клеток иммунологической памяти (CD45+CD4+CD62L-, CD45+CD4+CD62L-CD45RACD45RO+). Данный факт является подтверждением активного участия Th1-лимфоцитов в развитии иммунного ответа на вакцинальный процесс. В тесте *in vitro*, когда лимфоциты крови вакцинированных лиц стимулировали протективным антигеном, а затем определяли методом проточной цитофлуориметрии значения коэффициента стимуляции, были получены результаты, свидетельствующие об эффективности вакцинации [2,3].

В похожем исследовании на 14 сутки после вакцинации прослеживалась тенденция к снижению уровня лимфоцитов, экспрессирующих CD3, CD4, CD8, но при этом достоверно повышалось содержание естественных киллеров CD16, уровня В-лимфоцитов и IgG по сравнению с контрольными значениями у невакцинированных [13].

Вакцина сибиреязвенная комбинированная сухая для подкожного применения. Вакцина разработана специалистами Центра военно-технических проблем биологической защиты МО РФ, впоследствии НИИ микробиологии МО РФ (в настоящее время 48 Центрального НИИ МО РФ). Получено несколько патентов РФ и сертификат на производство вакцины [7, 8, 11, 15].

Комбинированная вакцина состоит из спор вакцинного штамма *V. anthracis* СТИ-1 и адсорбированного на геле гидроокиси алюминия культурального фильтрата штамма *V. anthracis* 55 (рХО1⁺рХО2⁻), содержащего протективный антиген. Препарат выпускается в жидкой форме и в виде лиофилизата, из которого готовится суспензия для подкожного введения. Рекомендовано однократное введение. Одна человеко-доза комбинированной вакцины содержит в 0,5 см³ 40 — 60 млн спор штамма *V. anthracis* СТИ-1, 30 — 40 ИД₅₀ для мышей протективного антигена, не более 2,5 мг окиси алюминия. Индекс иммунитета для морских свинок — не менее 25 000 [11].

Формирование напряженного иммунитета при регламентируемом однократном применении комбинированной вакцины наступает уже к 7 — 10 суткам и сохраняется 6 месяцев, через 9 — 12 месяцев определяется примерно у 50 — 70% привитых. В то время, как при однократном применении живой вакцины высокий уровень специфической резистентности выявляется лишь к 21 суткам у 55 — 65% вакцинированных, сохраняется до 6 месяцев у 15 — 20% и до 9 — 12 месяцев — лишь у 5 — 10% привитых. Доклинические испытания комбинированного препарата не выявили существенных отличий по безвредности и реактогенности в сравнении с живой вакциной. В ряде случаев уровень защиты экспериментальных животных превышал эффект от применения каждого из ее компонентов в отдельности [11, 12].

Клинические исследования показали, что первичная однократная подкожная иммунизация людей комбинированной вакциной обеспечивала формирование напряженного иммунитета более чем у 80% привитых с сохранением высокого уровня в течение 8 месяцев. Примерно у 5% вакцинированных от числа лиц с активной продукцией антител эти титры сохранялись в течение 1,5 лет. Возраст донора, группа крови и резус-фактор не влияли на активность гуморального ответа. При исследовании через 8 месяцев после вакцинации сухой комбинированной вакциной активную продукцию антител к ПА (1:800 по результатам ИФА) выявляли у 40% доноров, слабый иммунный ответ (1:100) регистрировали у 15% лиц. В случаях вакцинации живой сибиреязвенной вакциной наблюдали совсем иную динамику — титр антител 1:800 не был определен ни у одного из доноров, у 20 % он составил 1:400, а у 80% — 1:100 и менее [20].

Технологии производства живой и комбинированной вакцин сопряжены с необходимостью использования спорообразующего аттенуированного штамма *V. anthracis*, при этом не исключен риск контаминации оборудования и помещений бактериальными спорами, чрезвычайно устойчивыми к действию факторов внешней среды. Проблематично применение живой вакцины для экстренной профилактики на фоне антибиотикотерапии. Создание вакцинных штаммов, устойчивых к антимикробным препаратам [1, 17], не в состоянии охватить изменяющийся спектр используемых средств химиофилактики.

Химическая вакцина АVP. В Великобритании выпускается вакцина АVP (*anthrax vaccine precipitated*). Производство лицензировано в 1979 г. Протективный антиген получают из культурального фильтрата авирулентно-

го бескапсульного штамма *V. anthracis* Sterne 34F₂ (pXO1⁺pXO2⁻). В качестве адьюванта используют фосфат алюминия. В вакцинном препарате среди прочих примесей содержится относительно высокий процент летального фактора — более 30%, а также белки S-слоя Sap и EA1. Все перечисленные протеины по результатам функционального скрининга генома с использованием биоинформационного и протеомного анализов относятся к дополнительным иммуногенным факторам [34]. Следовательно, при иммунизации людей вакциной AVP специфическая резистентность определяется совокупным действием протективного антигена, летального фактора и белков S-слоя [24]. Лицензированная вакцина AVP вводится внутримышечно, график иммунизации включает 4 инъекции. Интервал между первыми тремя прививками составляет 3 недели, а между последними двумя — 6 месяцев. Ревакцинация осуществляется ежегодно.

Неоднократно проводились рандомизированные клинические исследования AVP. Сообщалось, что у 24% вакцинированных AVP людей возникают легкие системные побочные эффекты, например, гриппоподобные симптомы — мышечные и головные боли, утомляемость. Реже отмечают увеличение лимфоузлов, небольшое повышение температуры, сыпь, зуд или другие аллергические реакции. При исследовании 129 пациентов военно-полевого госпиталя 47% вакцинированных AVP пожаловались на боль в месте инъекции, 18% — на ограничение подвижности руки. Возможно появление сыпи и небольшого отека на месте введения, которые могут сохраняться в течение нескольких дней, а затем проходят без назначения симптоматического лечения [25].

Химическая вакцина AVA (BioThrax®). Лицензия на производство американской химической вакцины получена в 1970 г. отделом биопрепаратов Национального института здоровья Департамента здравоохранения (Мичиган). Впоследствии производственная линия и интеллектуальная собственность были переданы частной биофармацевтической компании Emergent BioSolutions (Gaithersburg, Мэриленд), до 2004 г. называвшейся BioPort Corporation (Лансинг, Мичиган). В настоящее время вакцина выпускается под названием AVA (anthrax vaccine adsorbed) или BioThrax® (усовершенствованный вариант вакцины AVA). Получают путем адсорбции на гидроокиси алюминия культурального фильтрата штамма *V. anthracis* V770-NR1-R (pXO1⁺pXO2⁻), являющегося протеазонегативным производным вакцинного штамма *V. anthracis* Sterne 34F₂. Основной активный компонент — протективный антиген. Консерванты — бензотония хлорид и формальдегид [49].

Первичный комплекс иммунизации химической вакциной AVA с 1970 по 2008 гг. включал 6 подкожных инъекций в следующие сроки: 0, 2 и 4 недели, а также 6, 12 и 18 месяцев от первой инъекции. В клинических исследованиях, проводимых в период с 1996 по 1999 гг. Медицинским НИИ инфекционных болезней армии США (USAMRI), у 14% добровольцев в течение 30 минут после подкожной инъекции отмечали эритему, головную боль и/или повышение температуры. В 4% случаев в более отдаленные сроки наблюдали общие реакции, включающие недомогание, головную боль, миалгию, повышение температуры, затруднение дыхания, тошноту или рвоту. Локальные реакции: покраснение, инфильтрацию, болезненность в месте введения, зуд и отек, регистрировали чаще у женщин. Все описанные явления достаточно быстро купировались без назначения симптоматического лечения [46].

После драматических событий 2001 года существенно активизировались усилия, направленные на повышение эффективности и уменьшения кратности введения AVA. В интенсивном режиме проводились масштабные испытания. Данные Центров по контролю и профилактике заболеваний США о безопасности вакцины и побочных действиях систематически пополнялись за счет рандомизированных клинических исследований и данных Системы отчетности неблагоприятных реакций на вакцины (VAERS), в том числе по рассмотрению личных дел 500 000 американских военнослужащих [29]. Проведенный в USAMRIID анализ состояния здоровья 1583 работников, получающих профилактические прививки американской химической вакцины (из них 273 человека получили 10 и более доз, 46 человек — 20 и более доз) показал, что женщины и люди старше 40 лет чаще реагируют на прививки появлением местных и общих реакций. Возникновение локальных симптомов наиболее вероятно после получения 3,6% доз, а системных проявлений — 1% доз вакцины AVA [9].

С целью снижения риска развития локальных побочных эффектов Центр оценки и исследования биологических продуктов (CBER) в 2008 году одобрил изменение пути введения вакцины AVA на внутримышечный. Подкожный путь введения рекомендовано использовать по медицинским показаниям, например, у лиц с нарушениями свертываемости крови. Внесено изменение и в график иммунизации, количество инъекций сокращено до пяти: 0 и 1 месяц, бустерные — 6, 12 и 18 месяцев от первой инъекции, с последующим интервалом в 1 год. С целью экстренной профилактики вакцину вводят 3 раза в течение 4 недель на фоне приема регламентированных антибиотиков. Усовершенствованный вариант вакцины AVA, получивший название BioThrax[®], с измененным графиком вакцинации и способом введения прошел все фазы доклинических, клинических исследований [42] и процедуру лицензирования. Эффективность и безопасность вакцины AVA (BioThrax[®]) подтверждена документами Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA).

Наиболее часто встречающиеся побочные эффекты при использовании лицензированной вакцины BioThrax[®]: болезненность, эритема менее 5 см в диаметре, зуд, отек, гематома и образование подкожных узлов на месте введения. Реже регистрируют системные побочные эффекты — мышечные боли или временное ограничение движения руки, подмышечные лимфаденопатии, головные боли, повышение утомляемости (от 0,3 до 11,9% вакцинированных). В некоторых случаях отмечают эритему более 12 см в диаметре — 5%, отеки в области предплечья — 1%. Все описанные явления достаточно быстро купируются без назначения симптоматического лечения. В целом после изменения графика иммунизации и пути введения препарата частота развития побочных эффектов снизилась [26]. Возникновение серьезных аллергических реакций в виде анафилактического шока — 0,76 эпизодов на 100 000 доз. По официальным данным CDC нет доказательств того, что сибиреязвенная химическая вакцина AVA (BioThrax[®]) вызывает долгосрочные проблемы со здоровьем. Объем производства вакцины BioThrax[®] фармацевтической компанией Emergent BioSolutions составляет 7 — 9 млн доз в год, планируется увеличение выпуска до 20 — 25 млн доз в год и более. Срок годности вакцины увеличен до 3 лет.

Эта же компания довела до одобрения FDA (2015 г.) препарат Anthrasil[™]

— гомологичный иммуноглобулин для внутривенного введения для лечения легочной формы сибирской язвы в составе комплексной антибактериальной терапии. Препарат разработан канадской компанией Cangene Corporation при поддержке Управления перспективных биомедицинских исследований и разработок Министерства здравоохранения и социальных служб США (BARDA). Он изготавливается из плазмы крови добровольцев, привитых против сибирской язвы химической вакциной AVA, и предназначен для создания стратегических государственных запасов на случай возникновения экстраординарной ситуации. В России разрабатывался подобный препарат из плазмы крови лиц, вакцинированных отечественной живой вакциной [4, 6]. События 2016 г. в Ямало-Ненецком автономном округе актуализировали вопрос о необходимости зарегистрированного гомологичного иммуноглобулина для экстренной профилактики и лечения тяжелых форм сибирской язвы.

Экспериментальная вакцина NuThrax™. Препарат AV-7909, впоследствии получивший название NuThrax™, представляет собой химическую сибирезвенную вакцину AVA (BioThrax®) с добавлением CpG 7909. Цитозин-гуанин олигодезоксинуклеотиды (CpG-ODN) взаимодействуют со структурами врожденного иммунитета — толл-подобными рецепторами 9 типа, тем самым существенно повышая уровень иммунного ответа [27]. Применение CpG-ODN одобрено Глобальным консультативным комитетом по безопасности вакцин ВОЗ. Адъювант CpG 7909 (другое название VaxImmune™), производимый Coley Pharmaceutical Group (с апреля 2015 г. — Merck & Co.), позиционируется как перспективный продукт для использования в вакцинных программах.

Ранние исследования AV-7909 проводились Национальным институтом здоровья (NIH) Национального института аллергических и инфекционных болезней (NIAID) при поддержке BARDA. Они включали разработку технологии производства, доклинические испытания, I и II фазы клинических исследований. В 2011 году опубликовано сообщение о I фазе клинических исследований препарата AV-7909 [47]. В 2014 г. успешно завершена II фаза клинических исследований препарата AV-7909 [39]. На основании данных отчета, размещенного на официальном сайте клинических исследований, иммунологически-значимых побочных эффектов не наблюдалось ни в одном из случаев. В ряде случаев пациенты отмечали небольшую усталость (14,7%), невыраженные мышечные (17,6%) и головные боли (8,8%), несильную болезненность в месте введения (17,6%), некоторое ограничение подвижности руки (26,4%), покраснение на месте введения (2,9%).

После получения положительных результатов II фазы клинических исследований Министерство здравоохранения и социальных служб США (HHS) поручило фармацевтической компании Emergent BioSolutions дальнейшую разработку и испытания вакцинного препарата AV-7909, получившего название NuThrax™. Более чем 8 лет экспериментальных работ увенчались переходом на новый уровень. В конце 2014 г. заключен контракт с Emergent BioSolutions на 31 млн долларов и 30 месяцев при финансовой и технической поддержке BARDA. Планировалось стабилизировать вакцину, получив ее лиофилизированную форму. В последующем между BARDA и Emergent BioSolutions был заключен пятилетний контракт на 198,7 млн долларов, финансирующий мероприятия, необходимые для лицензирования вакцины FDA. В условия контракта входят проведение III фазы клинического исследования с целью определения эффективности кандидатной вакцины NuThrax™, II фазы

клинического исследования с целью оценки безопасности вакцины, ее эффективности на фоне антибиотикотерапии, а также организация опционов на закупку вакцины для решения стратегических национальных задач [37].

Препарат NuThrax™ позиционируется как средство плановой и экстренной специфической профилактики сибирской язвы. Введение адьюванта CpG 7909 в рецептуру вакцины AVA (BioThrax®) позволяет существенно улучшить ее иммунологические характеристики, уменьшить количество вводимого антигена и сократить график вакцинации. На сегодняшний день исследования кандидатной вакцины NuThrax™ показывают, что две дозы препарата, вводимые с интервалом в 14 суток, оказываются достаточными, чтобы стимулировать полноценный иммунный ответ. При этом ни в одном из случаев не отмечено побочных реакций средней и тяжелой степени выраженности, в том числе аутоиммунной этиологии [38]. Если все испытания закончатся успешно, то по заявлению руководителя BARDA в скором времени ожидается получение нового препарата для экстренной специфической профилактики сибирской язвы, позволяющего достичь более высокого уровня готовности при более низкой стоимости.

Экспериментальные рекомбинантные вакцины. Антигенный состав перечисленных выше химических вакцин, получаемых из аттенуированных штаммов-продуцентов, трудно определяем, содержание протективного антигена в них варьирует от лота к лоту [33]. Нестандартизованный состав и наличие примесей отражается на эффективности и безопасности подобных препаратов. По определению ВОЗ современные вакцины должны: содержать только полностью охарактеризованные вещества с установленным механизмом действия; эффективно защищать от заражения любым вирулентным штаммом соответствующего микроорганизма; не вызывать токсического воздействия или различных степеней тяжести побочных действий на макроорганизм. К достижению этого идеала стремятся рекомбинантные вакцины. Разработка препаратов на основе иммуногенных антигенов, синтезируемых рекомбинантными продуцентами, в значительной мере решает проблему остаточной вирулентности и реактогенности.

Наибольший прогресс в продвижении рекомбинантных вакцин достигнут в США. Правительство США после 2011 г. определяет сибирскую язву как угрозу национальной безопасности, это объясняет объем финансирования и приоритетность разработки вакцин нового поколения, удовлетворяющих спрос на формирование запаса для стратегических целей (определяемый правительством уровень — 75 млн доз), повышение стабильности и снижение дозы вводимого препарата.

Рекомбинантные вакцины содержат минимальное количество очищенных протективных антигенов, необходимое для достижения эффективной иммунологической защиты. С одной стороны, это снижает антигенную нагрузку на макроорганизм, с другой, позволяет увеличить количество получаемых доз, что, в конечном итоге, может привести к значительной экономии затрат в расчете на одну человеко-дозу.

Аттенуированные и природные штаммы *V. anthracis* в силу генетических особенностей имеют ограничения в достижении высокого уровня синтеза протективного антигена. Это связано с особенностями регуляции кодирующего гена *pagA*. В штаммах возбудителя сибирской язвы данный ген находится под контролем глобального регулятора транскрипции *AtxA*.

Физиологическими регуляторами экспрессии гена *atxA* является температура 37°C, окислительно-восстановительный потенциал и фаза роста микроорганизма [32]. Как следствие, в условиях *in vitro* штаммы *B. anthracis* продуцируют протективный антиген и другие компоненты токсина только в атмосфере повышенного содержания CO₂ и на средах, содержащих бикарбонат. Ген *atxA* расположен на плазмиде *pXO1*, здесь же локализован ген *pagR*, кодирующий синтез негативного регулятора *pag*-оперона. Его транскрипция находится под контролем CO₂-независимого P2-промотора. Инактивация гена *pagR* приводит к повышению экспрессии гена *pagA* в 2 — 3 раза [43]. Почти полный аналог этого гена был совсем недавно обнаружен на плазмиде *pXO2* [41]. Предположительно он осуществляет негативную регуляцию *pagR*. Отсутствие репликона *pXO2* и соответственно гена *pagR_{pXO2}* в используемых в качестве продуцентов штаммах *B. anthracis* СТИ-1, *B. anthracis* 55 и *B. anthracis* Sterne 34F₂ отчасти может объяснить более низкий уровень продукции ими целевого белка по сравнению с диплоидными производными. В регуляции сибирезвенового токсина участвуют и хромосомные детерминанты, в частности, ген *abrV*. Фактор *AbrV* возбудителя сибирской язвы осуществляет негативную регуляцию гена *pag*, контролируя его транскрипцию в соответствии со стадией роста бактерии. В конце экспоненциальной фазы роста, когда уровень *AbrV* начинает снижаться, синтез протективного антигена, напротив, интенсифицируется. За позитивную регуляцию *atxA*-регулона в постэкспоненциальную фазу роста микроорганизма отвечает ген *sigmaH* [36]. В рекомбинантных штаммах транскрипция клонированного гена *pagA* находится под сильным CO₂-независимым промотором векторной плазмиды. Новые технологии позволяют существенно повысить производительность и рентабельность производства вакцин.

В 2013 — 2016 гг. на различных фазах клинических испытаний находилось 4 кандидатные рекомбинантные вакцины для специфической профилактики сибирской язвы, успешно прошедшие все фазы доклинических испытаний [23].

PreviThrax™ (ранее *rPA102*) — в настоящее время разработка осуществляется в фармацевтической компании Emergent BioSolutions. Экспериментальная вакцина для экстренной профилактики сибирской язвы содержит очищенный рекомбинантный протективный антиген (рПА), выделенный из генно-инженерного штамма *B. anthracis*, доклинические и начальные фазы клинических исследований прошли успешно [3, 40]. Тем не менее, в 2006 г. был приостановлен контракт с фирмой VaxGen Inc. на 877 млн долларов на разработку вакцины *rPA102* ввиду проблем со стабильностью препарата, изготавливаемого в жидкой форме. В 2008 г. права на производство вакцины были переданы частной фармацевтической компании Emergent BioSolutions, взявшей на себя решить возникшие трудности и довести экспериментальную вакцину под новым названием *PreviThrax™* до клинических испытаний и одобрения национальным регулирующим органом США — FDA. В 2013 г. Emergent BioSolutions сообщала о прохождении препаратом *PreviThrax™*, содержащим очищенный рПА, II фазы клинических испытаний. В 2016 г. в описании *PreviThrax™* добавлены данные об адъюванте — CpG 7909, новая формула экспериментальной вакцины проходит I фазу клинических исследований [23].

В РосНИПЧИ «Микроб» разработан прототип рекомбинантной вакцины,

содержащий рПА и белок S-слоя EA1. В рецептуру прототипа вакцины включен современный адъювант CpG 2006 (нуклеотидная последовательность идентична CpG 7909), синтезированный на автоматическом олигосинтезаторе. Разработана технологическая схема получения лекарственной лиофилизированной формы прототипа вакцины. На основании комплексного исследования на соответствие требованиям к иммунобиологическим лекарственным препаратам (по иммунологической эффективности, безопасности и физико-химическим свойствам) показана его перспективность для последующих доклинических исследований. Наиболее близким аналогом прототипа вакцины является PreviThrax™.

SparVax™ — в настоящее время разработка осуществляется в компании PharmAthene (Annapolis, Мэриленд, США). Лиофилизированный препарат содержит рПА, выделенный из генно-инженерного штамма *Escherichia coli*. Первоначально была разработана жидкая форма SparVax®, содержащая сорбированный на альгидрогеле рПА. Сообщалось об успешном завершении II фазы клинических испытаний в 2007 г. Исследование с участием свыше 770 добровольцев показало в целом хорошую переносимость и высокую иммуногенную активность. Тем не менее, ввиду проблем со стабильностью препарата, в 2014 г. был подписан контракт PharmAthene с NIAID на создание лиофилизированной формы экспериментальной вакцины на основе собственной технологической платформы компании. Стабилизированный препарат сохраняет активность в условиях хранения при комнатной температуре. Во II квартале 2016 г. планировалось проведение доклинических испытаний, в случае получения положительных результатов и одобрения FDA в 2017 г. — начало клинических исследований [24].

Px563L — в настоящее время разработка осуществляется в компании Pfenex (Сан-Диего, Калифорния, США). Экспериментальная вакцина Px563L содержит мутантный рекомбинантный протективный антиген с адъювантом (не конкретизируется). После успешного завершения доклинических испытаний Px563L в 2015 г. Министерство здравоохранения и социальных служб США заключило с Pfenex контракт на 15,9 млн долларов и 30 месяцев при финансовой и технической поддержке BARDA на проведение клинических испытаний на небольшом количестве здоровых добровольцев [31]. Впоследствии договор был продлен за счет дополнительного финансирования на 5 последующих лет в размере 143,5 млн долларов для определения иммунологической эффективности кандидатной вакцины и определения минимального количества доз, необходимых для достижения желаемого иммунного ответа. В доклинических и клинических исследованиях вакцина продемонстрирована эффективность после получения двух доз, вводимых с интервалом в 28 суток. Экспериментальная вакцина Px563L более стабильна, проще и рентабельнее в массовом производстве, чем лицензированная вакцина BioThrax®. Высокая производительность процесса получения вакцины обусловлена использованием оригинальной технологической платформы — Pfenex Expression Technology®. Рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование I фазы продемонстрировало иммунологическую эффективность и хорошую переносимость препарата. После введения двух доз Px563L в 100% случаев выявлено достижение необходимого уровня титров токсин-нейтрализующих антител, в то время как у лиц, трехкратно иммунизированных лицензированной вакциной BioThrax®, только в 57,9 % случаев был зарегистри-

стрирован тот же уровень показателя. Из побочных явлений отмечали невыраженные реакции в месте введения, ни у одного добровольца не было боли в месте инъекции, отека, ограничения подвижности руки [45].

Anthrax vaccine (oral) — совместная разработка NIAID, отделение микробиологии и инфекционных болезней (DMID) и фармацевтической компании PaxVax (Сан-Диего, Калифорния, США). Представляет собой аттенуированный аденовирус 4 серотипа — Ad4, синтезирующий рПА. Препарат предназначен для перорального введения без адьюванта [23]. С 2013 г. проходит I фазу клинических испытаний. Похожий препарат для однократного интраназального введения на основе нереплицирующегося аденовируса 5 серотипа находится на стадии доклинических испытаний. Вирусные векторы являются универсальной платформой для включения протективных антигенов патогенных микроорганизмов. Такие векторные системы детально охарактеризованы в доклинических и клинических исследованиях, что ускоряет принятие решений о проведении доклинических и клинических исследований. Важно, что вакцины на основе аттенуированных вирусов имитируют инфекцию, экспрессируя протективные антигены *in situ*, облегчая тем самым индукцию Т-клеточного ответа, в том числе продукцию цитотоксических Т-лимфоцитов.

Таким образом, специфическая профилактика сибирской язвы является важным звеном в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Лицензированные и успешно применяемые сегодня сибиреязвенные вакцины наряду с достоинствами не лишены недостатков. Химические вакцины AVA и AVP индуцируют выработку антител в высоких титрах и в ранние сроки, но для поддержания напряженного иммунитета требуют неоднократного введения. Технологии их производства основаны на использовании аттенуированных штаммов *B. anthracis*, имеющих в силу естественных причин ограничения в достижении высокого уровня продукции протективного антигена. Живая сибиреязвенная вакцина СТИ-1 обеспечивает более длительный иммунитет при условии двукратного использования, но она не безупречна в плане безопасности для макроорганизма, затруднительно ее использование на фоне приема антибиотиков. Процесс изготовления живой вакцины осложнен способностью вакцинного штамма к образованию спор. Усилия по разработке вакцин нового поколения направлены на увеличение безопасности, уменьшение кратности введения и совершенствование технологии производства. Наиболее востребованные пути реализации — объединение достоинств химической и живой вакцины в комплексном препарате; введение в рецептуру зарегистрированной химической вакцины адьюванта, взаимодействующего со структурами врожденного иммунитета; использование высокопроизводительных и безопасных генно-инженерных продуцентов. Комбинированную вакцину в отличие от живой можно включать в схему экстренной профилактики наряду с антибиотиками. Применение современных адьювантов в составе вакцин решает задачу оптимального представления антигенов иммунной системе, способствует формированию выраженного иммунного ответа с развитием гуморальных и клеточных иммунных реакций. Рекомбинантные технологии успешно решают проблему остаточной вирулентности и реактогенности создаваемых иммунобиологических препаратов, они более производительны и позволяют создавать универсальные технологические платформы для производства различных вакцин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П., Коготкова О.И., Еременко Е.К., Цыганкова О.И. Свойства живой сибиреязвенной антибиотикоустойчивой вакцины СТИ-ПР в процессе длительного хранения. Журн. микробиол. 2007, 1: 34-36.
2. Богачева Н.В., Дармов И.В., Кучеренко А.С., Крючков А.В., Вахнов Е.Ю. Оценка иммунореактивности лиц, вакцинированных чумной, сибиреязвенной, бруцеллезной, туляремийной живыми сухими вакцинами и противоботулиническим трианатоксином, в зависимости от уровня иммунологической нагрузки. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013, 6 (73): 79-84.
3. Богачева Н.В., Крючков А.В., Дармов И.В., Воробьев К.А., Печенкин Д.В., Елагин Г.Д., Колесников Д.П. Экспериментальная оценка методом проточной цитофлюориметрии уровня клеточной иммунологической памяти у лиц, вакцинированных против чумы и сибирской язвы. Клиническая лабораторная диагностика. 2013, 11: 48-53.
4. Боровской Д.В., Шевцов А.Н., Дармов И.В., Луб М.Ю., Зайцева Г.А., Дробкова А.В., Долматов В.Ю. Новый иммуноглобулин для лечения сибирской язвы. Журн. микробиол. 2009, 3: 56-60.
5. Бургасов П.Н., Черкасский Б.Л., Кноп А.Г., Утегенов К.Д. Эпидемиологическая эффективность сибиреязвенной вакцины СТИ. Журн. микробиол. 1976, 9: 27-35.
6. Долматов В.Ю., Дробкова А.В., Лютов А.Г., Мальцева О.В., Шевцов А.Н., Боровской Д.В., Елагин Г.Д., Карпова М.В., Вершинина О.А., Блинова Е.А., Шарыгин С.Л. Возможность получения противосибиреязвенного иммуноглобулина для внутривенного введения. Проблемы особо опасных инфекций. 2008, 2 (96): 39-42.
7. Кожухов В.В., Пименов Е.В., Дармов И.В., Маслов А.В., Сероглазов В.В., Амосов М.Ю., Комоско Г.В. Способ комплексной профилактики сибирской язвы. Патент № 2216349 РФ, опубл. 01.03.2002 г.
8. Кожухов В.В., Пименов Е.В., Сероглазов В.В., Юднико В.А., Меновщиков В.А. Способ получения сухой комбинированной сибиреязвенной вакцины. Патент № 2181294 РФ, опубл. 20.04.2002 г.
9. Кутырев В.В., Микшис Н.И. Сибиреязвенные вакцины. Вакцины и вакцинация: национальное руководство. Под ред. В. В. Зверева, Б. Ф. Семенова, Р. М. Хайтова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2011.
10. Онищенко Г.Г., Васильев Н.Т., Литусов Н.В., Харечко А.Т., Васильев П.Г., Садовой Н.В., Кожухов В.В. Сибирская язва: Актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. М., ВУНМЦЗ МЗ РФ, 1999.
11. Онищенко Г.Г., Кожухов В.В. (ред.) Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты. М., Медицина, 2010.
12. Пименов Е.В., Дармов И.В., Васильев Н.Т., Кожухов В.В., Бондарев В.П., Кутырев В.В. Состояние вопроса и перспективы разработки вакцин против сибирской язвы. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002, 5: 42-46.
13. Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Головинская Т.М., Рязанова А.Г., Буравцева Н.П., Русанова Д.В. Влияние сибиреязвенной вакцины на некоторые показатели иммунитета у людей. Intern. J. Immunorehabilitation. 2010. 12; 2: 129.
14. Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Еременко Е.И., Цыганкова О.И., Варфоломеева Н.Г., Куличенко А.Н. Сибирская язва: Эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация в 2015 г., прогноз на 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 2: 24-27.
15. Садовой Н.В., Кравец И.Д., Селиваненко Г.М., Харечко Г.С., Садовая Е.А., Васильев П.Г., Литусов Н.В., Елагин Г.Д., Супотницкий М.В. Вакцина сибиреязвенная комбинированная. Патент № 2115433 РФ, опубл. 20.07.1998 г.
16. Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Олефир Ю.В. Современное состояние вакцинопрофилактики особо опасных инфекций. Проблемы особо опасных инфекций. 2016, 2: 107-110.
17. Сероглазов В.В., Кожухов В.В., Амосов М.Ю., Строчков Ю.И. Сибиреязвенный вак-

- цинный штамм СТИ-ПР-4 с расширенным спектром антибиотикорезистентности. Патент № 2173342, опублик. 19.01.2000 г.
18. Сероглазов В.В., Кожухов В.В., Строчков Ю.И., Амосов М.Ю. Способ поддержания сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1. Патент № 2142009 РФ, опублик. 27.11.1999 г.
 19. Супотницкий М.В., Борисевич И.В., Климов В.И., Шевцов А.Н., Луб М.Ю., Туманов А.С. Роль российских и советских ученых в разработке сибиреязвенных вакцин. Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение. 2015, 2 (54): 46-52.
 20. Шевцов А.Н., Дармов И.В., Зайцева Г.А., Боровский Д.В., Меновщиков В.А., Кунов В.К. Исследование иммунитета и аллергии после вакцинации сухой комбинированной вакциной. Журн. микробиол. 2007, 5: 51-53.
 21. Шевцов А.Н., Фокина В.В., Дармов И.В., Седельников И.Н. Глубинный способ получения посевных культур вакцинного производственного штамма сибиреязвенного микроба. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2010, 6; 3: 30-34.
 22. Шестакова И.В. Сибирская язва ошибок не прощает: оценка информации после вспышки на Ямале летом 2016 года. Журнал инфектологии. 2016, 8 (3): 5-27.
 23. 2016 Vaccines in Development. <http://www.phrma.org/sites/default/files/pdf/medicines-in-development-drug-list-vaccines.pdf>.
 24. Anthrax vaccine. <http://www.pharmathene.com/anthrax-vaccines>.
 25. Baillie L., Hebdon R., Flick-Smith H., Williamson D. Characterisation of the immune response to the UK human anthrax vaccine. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2003, 36 (1-2): 83-86.
 26. Bienek D., Loomis L., Biagin R. The anthrax vaccine. Human Vaccines. 2009, 5 (3): 184-189.
 27. Bode C., Zhao G., Steinhagen F., Kinjo T. CpG DNA as a vaccine adjuvant. Expert Rev. Vaccines. 2011, 10 (4): 499-511.
 28. Brachman P. Bioterrorism: an update with a focus on anthrax. Am. J. Epidemiol. 2002, 155: 981-987.
 29. Catherino W., Levi A., Kao T. et al. The anthrax vaccine does not affect semen parameters, embryo quality, or pregnancy outcome in couples with a vaccinated male military service member. Fertil. Steril. 2005, 83 (2): 480-483.
 30. Chitlaru T., Altboum Z., Reuveny S., Shafferman A. Progress and novel strategies in vaccine development and treatment of anthrax. Immunological Reviews. 2011, 239: 221-236.
 31. Development of new anthrax vaccine underway with HHS support. <http://www.hhs.gov/about/news/2015/08/17/development-of-new-anthrax-vaccine-underway-with-hhs-support.html>.
 32. Fouet A. AtxA, a Bacillus anthracis global virulence regulator. Res. Microbiol. 2010, 161 (9): 735-742.
 33. Friedlander A., Little S. Advances in the development of next-generation anthrax vaccines. Vaccine. 2009, 27: 28-32.
 34. Gat O., Grosfeld H., Ariel N. Search for Bacillus anthracis potential vaccine candidates by a functional genomic-serologic screen. Infect. Immun. 2006, 74 (7): 3987-4001.
 35. Gorse G., Keitel W., Keyserling H. et al. Immunogenicity and tolerance of ascending doses of a recombinant protective antigen (rPA102) anthrax vaccine: A randomized, double-blinded, controlled, multicenter trial. Vaccine. 2006, 24: 5950-5959.
 36. Hadjifrangiskou M., Chen Y., Koehler T. The alternative sigma factor sigmaH is required for toxin gene expression by Bacillus anthracis. J. Bacteriol. 2007, 189 (5): 1874-1883.
 37. HHS supports next-generation anthrax vaccine into advanced development. <http://www.hhs.gov/about/news/2016/09/30/hhs-supports-next-generation-anthrax-vaccine-advanced-development.html>.
 38. Hopkins R., Kalsi G., Montalvo-Lugo V. et al. Randomized, double-blind, active-controlled study evaluating the safety and immunogenicity of three vaccination schedules and two dose levels of AV7909 vaccine for anthrax post-exposure prophylaxis in healthy adults. Vaccine. 2016, 34 (18): 2096-2105.

39. Hopkins R., Daczkowska N., Kaptura P. et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled, safety and immunogenicity study of 4 formulations of anthrax vaccine adsorbed plus CPG 7909 (AV7909) in healthy adult volunteers. *Vaccine*. 2013, 31: 3051-3058.
40. Keitel W. Recombinant protective antigen 102 (rPA102): profile of a second-generation anthrax vaccine. *Exp. Rev. Vaccines*. 2006, 5 (4): 417-430.
41. Liang X., Zhang E., Zhang H. et al. Involvement of the pagR gene of pXO2 in anthrax pathogenesis. *Sci. Rep.* 2016, 6: 28827.
42. Marano N., Plikaytis B., Martin S. et al. Anthrax Vaccine Research Program Working Group.. Effects of a reduced dose schedule and intramuscular administration of anthrax vaccine adsorbed on immunogenicity and safety at 7 months: a randomized trial. *JAMA*. 2008, 300 (13): 1532-1543.
43. Mignot T., Mock M., Fouet A. A plasmid-encoded regulator couples the synthesis of toxins and surface structures in *Bacillus anthracis*. *Mol. Microbiol.* 2003, 47 (4): P. 917-927.
44. Okinaka R., Challacombe J., Drees K. et al. Genome sequence of *Bacillus anthracis* ST1, a Sterne-like Georgian/Soviet vaccine strain. *Genome Announc.* 2014, 2 (5): e00853-14.
45. Pfenex Announces Positive Anthrax Vaccine Study Results. <http://www.prnewswire.com/news-releases/pfenex-announces-positive-anthrax-vaccine-study-results-300310158.html>.
46. Pittman P., Gibbs P., Cannon T., Friedlander A. Anthrax vaccine: short-term safety experience in humans. *Vaccine*. 2002, 20: 972-978.
47. Rynkiewicz D., Rathkopf M., Sim A. et al. Marked enhancement of the immune response to BioThrax® (Anthrax Vaccine Adsorbed) by the TLR9 agonist CpG 7909 in healthy volunteers. *Vaccine*. 2011, 29: 6313-6320.
48. Shlyakhov E., Rubinstein E. Human live anthrax vaccine in the former USSR. *Vaccine*. 1994, 12: 727-730.
49. Turnbull P. Anthrax vaccines. In: Artenstein A. (ed.). *Vaccines: a biography*. Springer-Verlag. 2010, p. 57-71.
50. Watkinson A., Soliakov A., Ganesan A. et al. Increasing the potency of an alhydrogel-formulated anthrax vaccine by minimizing antigen-adjuvant interactions. *J. Clin. Vaccine Immunol.* 2013, 20 (11): 1659-1668.

Поступила 25.02.17

Контактная информация: Микшиш Наталья Ивановна, д.м.н.,
410005, Саратов, ул. Университетская, 46, р.т. (845-2) 26-21-31
