

Апрель–Июнь 2015

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 615.371

Исторический архив

Роль российских и советских ученых в разработке сибиреязвенных вакцин

М.В. Супотницкий¹, И.В. Борисевич¹, В.И. Климов¹, А.Н. Шевцов², М.Ю. Луб², А.С. Туманов²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия
²Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Киров, Россия

The role of Russian and Soviet scientists in the development of anthrax vaccines

M.V. Supotnitskiy¹, I.V. Borisevich¹, V.I. Klimov¹, A.N. Shevtsov², M.Yu. Lub², A.S. Tumanov²

¹Federal State Budgetary Institution «Scientific Center on Expertise of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
²Branch Office of the Federal State Budgetary Institution «48-th Central Scientific and Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov, Russia

В России во второй половине XIX в. сформировались школы исследователей, разрабатывающие сибиреязвенные вакцины для нужд сельского хозяйства. По своему уровню они не уступали западным аналогичным школам. В конце 1930-х гг. советскими военными учеными первыми в мире была создана сибиреязвенная вакцина на основе спор живых бескапсульных штаммов *Bacillus anthracis*, предназначенная для медицинского применения. Выбранные в 1940–1960-е гг. отечественными учеными направления разработки сибиреязвенных вакцин позволили избежать неудач, с которыми столкнулись западные исследователи при разработке вакцин, способных защитить население от биологического оружия, использующего в качестве поражающего агента споры возбудителя сибирской язвы. Благодаря усилиям российских военных ученых в 1990-е гг. удалось сохранить вакцинные штаммы сибиреязвенного микроба и восстановить технологические мощности по их производству, что позволяет защитить население Российской Федерации от природных вспышек сибирской язвы и возможных актов биологического террора. В условиях, когда необходимо создать у человека иммунитет к ингаляционному заражению спорами возбудителя сибирской язвы, в ближайшие десятилетия наиболее оптимальным будет применение отечественной комбинированной вакцины, сочетающей споры живых бескапсульных штаммов *B. anthracis* и протективный антиген сибиреязвенного токсина.

Ключевые слова: сибирская язва; легочная форма сибирской язвы; сибиреязвенная вакцина; протективный антиген; сибиреязвенный токсин; биотерроризм; иммунитет; споры.

Библиографическое описание: Супотницкий МВ, Борисевич ИВ, Климов ВИ, Шевцов АН, Луб МЮ, Туманов АС. Роль российских и советских ученых в разработке сибиреязвенных вакцин. Биопрепараты 2015; (2): 46–52.

In Russia in the second half of the XIX century research schools, developing anthrax vaccines for agriculture were formed. Their level was highly competitive with the Western analogues. At the end of the 1930 Soviet military scientists were the first in the world to create the anthrax vaccine for medical use on the basis of the spores of unencapsulated live strains of *B. anthracis*. In the 1940-1960-ies Russian scientists determined the principles of the development of anthrax vaccines, which allowed to avoid failures of their Western colleagues, when developing the vaccines capable of protecting the population from biological weapons with anthrax spores as the harmful agent. Russian military scientists in the 1990s managed to keep the vaccine strains of anthrax bacteria and restore the technological capability for their manufacture, which helps to protect the population of the Russian Federation from natural anthrax outbreaks and from biological terror. At a time when there is a need in creating immunity in humans against infection caused by inhalation of anthrax spores, the most reasonable decision for the upcoming decades is to use the domestic combined vaccine that combines unencapsulated live strains of *Bacillus anthracis* and anthrax toxin protective antigen.

Key words: anthrax vaccine; Siberian plague; pulmonary form of anthrax; pulmonary anthrax agent; a protective antigen of anthrax toxin; bioterrorism; immunity; spores.

Bibliographic description: Supotnitskiy MV, Borisevich IV, Klimov VI, Shevtsov AN, Lub MYu, Tumanov AS. The role of the Russian and Soviet scientists in the development of anthrax vaccine. Biopreparation (Biopharmaceuticals) 2015; (2): 46–52.

Сибирская язва (Anthrax) – опасная сапрозоонозная инфекционная болезнь людей и животных, вызываемая спорообразующей бактерией *Bacillus anthracis*. Характеризуется острым началом, тяжелой интоксикацией, лихорадкой, септициемией, возникновением отеков и карбункулов. Протекает в кожной, легоч-

ной (ингаляционной) и кишечной формах. Под разными названиями описание болезни встречается еще у античных авторов. Современное название болезни дал С.С. Андреевский (1760–1818), установивший в 1787 г. путем самозаражения инфекционный характер сибирской язвы. В XIX в. сибирская язва стала «бичом» за-

рождающегося промышленного животноводства. Однако к середине XX в., благодаря предпринятым ветеринарно-санитарным и противозидемическим мероприятиям, в промышленно-развитых странах заболеваемость сибирской язвой людей и сельскохозяйственных животных стала спорадической. Не последнее место в современном санитарном благополучии по сибирской язве сыграла вакцинация. Цель работы – показать роль российских ученых в разработке сибирезавенных вакцин.

Исторические предпосылки появления вакцинопрофилактики инфекционных болезней. Под вакцинопрофилактикой понимается искусственное создание иммунитета (невосприимчивости) как у отдельных людей, так и у населения в целом. С помощью древности было известно, что если у больного с легким течением натуральной оспы взять содержимое пустулы и втереть в ранку на коже здорового человека, это предотвратит развитие у него болезни в тяжелой клинической форме. Под названием «вариоляция» способ практиковался в Западной Европе с начала XVIII в. В России его начали использовать с 1768 г., после того, как императрица Екатерина Вторая (1729–1796) сделала себе и своему сыну Павлу Петровичу (1754–1801), будущему российскому императору, прививку содержимого оспенной пустулы с ручки мальчика-простолюдина. Тем самым в России были заложены противозидемические мероприятия с использованием специфической профилактики [1].

В начале XIX в. вариоляция, благодаря наблюдательности британского хирурга Эдварда Дженнера (1749–1823), была заменена более безопасным способом специфической профилактики, вакцинацией (от латинского «вакка», что означает «корова»), т.е. взятием для прививки оспенного детрита из пустулы на вымени коров, болеющих неопасной для людей болезнью – оспой коров. Во второй половине XIX в. французскому ученому Луи Пастеру (1822–1895) удалось ослабить вирулентность возбудителей некоторых инфекционных болезней и приготовить из них препараты для прививок по аналогии с Дженнеровской противосспенной вакциной. Он же предложил расширить применение терминов, предложенных Дженнером, и называть вакцинами препараты на основе ослабленных микроорганизмов, используемые для профилактики инфекционных болезней, а процедуру их применения — вакцинацией. В настоящее время термин «вакцинация» означает введение человеку или животному медицинского препарата, содержащего антигенный материал, с целью вызвать иммунитет к болезни, который предотвратит заражение или ослабит его негативные последствия.

Основные этапы в разработке сибирезавенных вакцин. Исследования по разработке сибирезавенных вакцин можно разделить на пять этапов¹:

I этап — получение капсулообразующих штаммов сибирезавенного микроба с ослабленной вирулентностью и использование их в качестве живых вакцин для животных (с 1879 г. по 1930-е гг.);

II этап — получение протективных антигенов возбудителя сибирской язвы и использование их в качестве компонентов химических вакцин для людей и животных (с 1879 г. по 1960-е гг.);

III этап — получение бескапсульных штаммов *B. anthracis* с ослабленной вирулентностью и использование их в качестве живых вакцин для людей и животных (со середины 1930-х гг. по 1960-е гг.);

IV этап — разработка комбинированных сибирезавенных вакцин для людей и животных, включающих бескапсульные штаммы *B. anthracis* и защитные (протективные) антигены возбудителя сибирской язвы различного происхождения (начало 1960–1990-е гг.).

V этап — получение генно-инженерными методами сибирезавенных вакцин для людей и животных на основе штаммов продуцентов близкородственных бацилл (начало 1980-х гг. – настоящее время).

Живые вакцины на основе ослабленных капсулообразующих штаммов сибирезавенного микроба. Начало первому этапу положил в 1879–1880 гг. французский исследователь Август Шаво (Auguste Chauveau, 1827–1917). Он установил тот факт, что овцы становились устойчивыми к сибирской язве при введе-

¹ В скобках указан период, в течение которого работы по созданию вакцин данного типа вышли на уровень исчерпания возможностей используемой технологии.

нии им малых количеств крови, содержащей возбудитель этой болезни. В тоже время метод Шаво не имел четких критериев эффективности и безопасности, позволяющих осуществлять его массовое применение [2].

Решающий вклад в создание капсульных сибирезавенных вакцин внес Л. Пастер. Изучая заболеваемость животных и птиц сибирской язвой, Л. Пастер пришел к выводу, что у кур сибирезавенную инфекцию можно вызвать лишь в случае искусственного понижения температуры тела путем помещения их в холодную воду. При этом он также установил, что при температуре 42–43°C (нормальная температура тела кур) у *B. anthracis* не отмечается спорообразования. Исходя из этих наблюдений, Л. Пастер в 1881 г. впервые проверил вирулентность культуры (ослабления) вирулентности *B. anthracis* и разработал метод получения капсулообразующих вакцинных сибирезавенных штаммов. Выращивая *B. anthracis* в курином бульоне при температуре 42–43°C, он ежедневно проверял вирулентность культур на овцах, кроликах и морских свинках. Через 1 сут культура убивала животных всех трех видов, на третьи сутки она убивала только кроликов и морских свинок, а на 7 сут — ни одного животного не погибло. Инкубированием культуры в течение 10–12 сут была получена II вакцина Пастера (менее ослабленная), а через 20–24 сут — I вакцина Пастера (более ослабленная). Затем культуры обеих степеней ослабления переводили в спорую форму на мясопептонном агаре при температуре 35°C. Первая вакцина Пастера вызывала гибель всех зараженных белых мышей и большинства молодых морских свинок, а для кроликов была безвредна. Вторая же вакцина Пастера вызывала гибель части кроликов, а у овец вызывала лишь повышение температуры тела. Л. Пастер на ферме Pouilly-le-Fort 5 мая 1881 г. впервые привил первой вакциной 24 овцы, 1 козу и 6 коров, а 17 мая — второй вакциной. Через 2 нед. после вакцинации (31 мая 1881 г.) животных заразили вирулентной культурой. Ни одно опытное животное не заболело сибирской язвой, а контрольные животные погибли (кроме одной овцы) в течение 2 сут (овцы и козы) или тяжело переболели (коровы). Через 8 мес. после прививки вновь осуществили заражение вакцинированных животных и снова получили положительные результаты. Иммунитет к сибирской язве вырабатывался спустя 8 сут и сохранялся в течение одного года [2] (рис. 1).

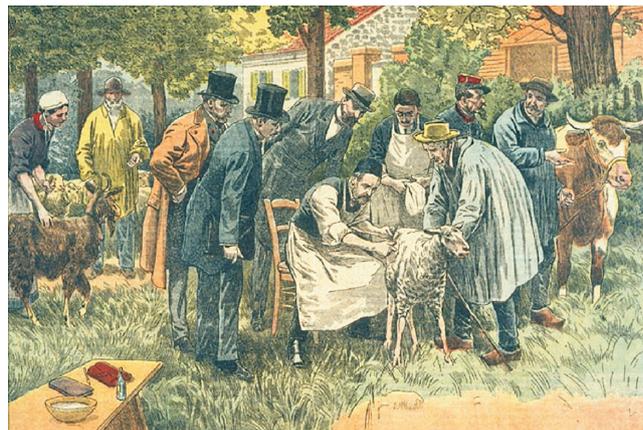


Рис. 1. Луи Пастер прививает животных на ферме Pouilly-le-Fort 5 мая 1881 г. [3].

Пастеровские вакцины создавали много проблем владельцам скота. Клетки сибирезавенного микроба со временем лизировались, и кроме того, пастеровские штаммы обладали высокой остаточной вирулентностью. Результаты их применения были противоречивыми. Привезенные в Россию в 1882 г. из Парижа вакцины Пастера не показали защитного действия на овцах землевладельца Кудрявцева из Херсонской губернии, а в имении Панкеева Таврической губернии вызвали гибель от сибирской язвы 80,3% овец [5, 6]. Однако имя их автора оказывало гипнотизирующее воздействие на владельцев крупных поголовий скота.

С 1885 г. вакцины Пастера широко применялись в России под названием «французские вакцины».

Используя предложенный Л. Пастером способ ослабления вирулентности возбудителя сибирской язвы, русский ученый Л.С. Ценковский (1822–1887) на кафедре ботаники Харьковского университета в мае 1883 г. получил две аналогичные вакцины (I и II вакцины Ценковского). Проверка полученных вакцин на белых мышах, сусликах и кроликах показала стойкое снижение вирулентности вакцинных штаммов [6].

Следующим шагом на пути получения капсулообразующих аттенуированных сибирезвездных штаммов стали работы профессора Казанского ветеринарного института И.Н. Ланге (1845–1912). В 1891 г. он получил по методу, использованному Пастером и Ценковским, две вакцины, нашедшие широкое применение в ветеринарной практике Российской Империи [7].

В 1897 г. для сравнения вакцин Ценковского, Ланге и «французских» Министерством внутренних дел Российской Империи была создана комиссия. Работы, проведенные в Саратовской и Донской губерниях, показали, что более стойкий и продолжительный иммунитет к заражению сибирской язвой создавали вакцины Ценковского. Однако последующее их применение показало, что контролировать остаточную вирулентность капсульных вакцин очень сложно. У привитых животных наблюдали поствакцинальные осложнения, вплоть до смертельных исходов [8]. Описаны также случаи заболеваний людей в результате неосторожного обращения со II вакциной Ценковского во время вакцинации животных [9].

К началу XX в. возможности способов снижения вирулентности капсулообразующих штаммов сибирезвездного микроба были исчерпаны. Исследования были направлены, в основном, на совершенствование методов приготовления и применения таких вакцин. В 1911 г. С.Н. Вышелеский (1874–1958) предложил при культивировании капсулообразующих вакцинных штаммов сибирезвездного микроба вместо куриного бульона использовать мясопептонный агар. В 20-х годах XX в. А.М. Безредка (1870–1940) рекомендовал внутрикожный метод вакцинации, показавший положительные результаты. В конце 1920-х гг. на появилось новое направление создания сибирезвездных вакцин – «сапонин-вакцины»: к вирулентным или аттенуированным капсулообразующим штаммам *B. anthracis* добавляли 2–5% сапонина, игравшего роль адъюванта. В 1934–1935 гг. в нашей стране такую вакцину предложили Ф.А. Терентьев и А. П. Ельцов. Вакцина содержала споры II вакцины Ценковского в растворе сапонина. Ее применение заменило двукратную вакцинацию по схеме Ценковского. Количество осложнений к общему числу привитых животных составило 0,11%, гибели животных после прививок «сапонин-вакциной» не наблюдалось. Перенос сроков прививок с весны на осень полностью предохранял животных от сибирской язвы в течение следующего года [2, 5].

Опыт, накопленный в течение более чем 50 лет широкого применения вакцин на основе живых капсульных штаммов (Пастера, Ценковского и др.), показал, что они так и не стали безопасными для сельскохозяйственных животных. Гибель от поствакцинальной сибирской язвы составляла в 1920–1930 гг. среди лошадей от 0,06 до 0,3 %, среди крупного рогатого скота — от 0,035 до 0,05 %, среди овец и коз — от 0,05 до 0,6 %. В абсолютных же цифрах поствакцинальная гибель животных в отдельные годы была огромна. Например, за 4 года (1928–1932 гг.) в СССР было привито вакцинами Ценковского 17265788 животных, из них погибло от поствакцинальной сибирской язвы 14720, т.е. 0,085 % [7]. Разумеется, такие вакцины не могли быть использованы в медицинской практике из-за риска развития сибирской язвы у вакцинированного человека. Поэтому неизбежно было развитие других направлений конструирования сибирезвездных вакцин, позволяющих их медицинское применение – на основе протективных антигенов возбудителя сибирской язвы и его бескапсульных штаммов.

Вакцины на основе протективного антигена возбудителя сибирской язвы. В 1879–1880 гг. французский исследователь Туссен (Toussaint) впервые показал, что овцы не заболевали сибирской язвой при заражении вирулентной культурой,

если им предварительно вводили прогретую при температуре 55°C в течение 10 мин дефибринированную или профильтрованную кровь, содержащую *B. anthracis*. Он предположил наличие в крови какого-то внеклеточного компонента, способного оказывать защитный эффект [6].

В 1904 г. О. Vail обнаружил в отечной сибирезвездной жидкости иммуногенный бесклеточный антиген и назвал его «агрессивным». В СССР в 1930-х гг. был разработан метод получения таких сибирезвездных агрессивных. Продуктом отечной жидкости лошади. Агрессивины получали из отечной жидкости, накапливавшейся в участке введения сибирезвездной культуры и плевральных экссудатов животных, болевших сибирской язвой. Экссудаты с агрессивинами были пригодны как для активной иммунопрофилактики, так и для получения лечебных сывороток. Наибольший вклад в эти исследования внесли Н.И. Винорадов и С.Н. Вышелесский. Однако иммунизация животных агрессивинами удавалась лишь при введении большого количества отечной жидкости и не могла применяться массово, их природа оставалась неизвестной. В 1946 г. британский исследователь G. Gladstone впервые в условиях *in vitro*, в жидкой сывороточной среде в присутствии 0,5 % бикарбоната натрия получил сибирезвездный бесклеточный антиген – компонент сибирезвездного токсина, названный им протективным антигеном (protective antigen, PA) [2].

Широко развернувшаяся после этого исследовательская работа британских и американских ученых² привела к открытию сибирезвездного токсина. Было показано, что сибирезвездный токсин состоит из трех компонентов: PA, отечного и летального факторов [10–13]. Модель действия сибирезвездного токсина приведена на рис. 2.

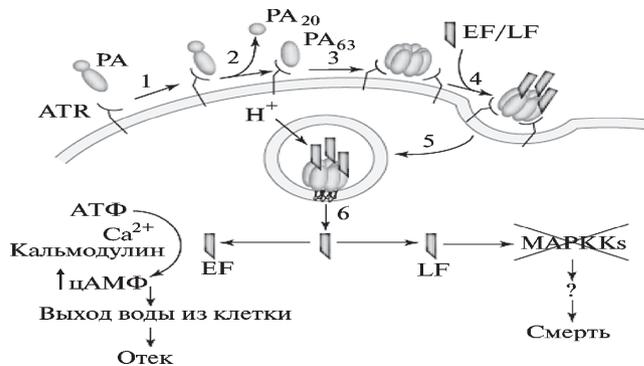


Рис. 2. Модель действия сибирезвездного токсина. 1 — протективный антиген (PA) специфически связывается с рецепторами на поверхности клетки (anthrax toxin receptor, ATR); 2 — PA расщепается мембранной фуриноподобной протеазой, высвобождая 20 кДа субъединицу (PA20) во внеклеточное пространство; 3 — оставшаяся 63 кДа субъединица (PA63) олигомеризуется и формирует гептамер; 4 — отечный фактор (EF) и/или летальный фактор (LF) связываются с гептамером; 5 — собравшийся из трех субъединиц токсин проникает в цитоплазматическое пространство клетки в составе эндосомы; 6 — низкое значение pH эндосомального пространства запускает конформационные изменения в гептамере, вызывая формирование катион-селективного канала и транслокацию в цитоплазму ферментативных субъединиц EF и LF [12].

PA является единственным иммуногеном сибирезвездного токсина, когда он вводится отдельно. При парентеральном введении животному он не вызывает отеков и летальных исходов. Два других компонента — отечный и летальный факторы — обладают биологически активными свойствами только в присутствии PA. С обнаружением PA, разработка препарата для иммунопрофилактики сибирской язвы человека в США и Великобритании развернулась в ином направлении, чем в СССР: от живых бескапсульных вакцин к химическим вакцинам на основе сибирезвездного PA. PA получают из фильтрата глубинной культуры вакцинного авирулентного штамма *B. anthracis* [13].

² В западных странах исследования PA проводились в военных НИИ: United States Army Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) и в U.K. Ministry of Defence's Microbiological Research Establishment.

В Советском Союзе продолжалось совершенствование живых бескапсульных вакцин, но одновременно шло изучение возможности включения в состав вакцин РА. Первыми в СССР в условиях *in vitro* очищенный РА получили А.В. Машков и В.П. Бодиско в 1958 г. На протяжении 1960–1980-х гг. исследования РА осуществлялись коллективами под руководством Н.И. Александрова, Э.Н. Шляхова, Ю.В. Езепчука, М.В. Рево, Г.В. Дунаева, Н.М. Новикова, М.И. Дербина, Н.В. Садового, В.В. Кожухова. Ими были предложены новые синтетические питательные среды, отработаны технологии получения РА, изучена эффективность химической вакцины на его основе [2, 13].

Вместе с тем широкая экспериментальная проверка вакцин на основе РА, проведенная в СССР, выявила у них три существенных по сравнению с живыми бескапсульными вакцинами недостатка: необходимость в многократных прививках; кратковременность вызываемого ими иммунитета; слабая защита от ингаляционного заражения. Относительно полноценный иммунитет к возбудителю сибирской язвы создавался после курса трехкратной первичной иммунизации, поддержание иммунитета должно было подкрепляться систематически проводимыми ревакцинациями через каждые 6 мес. Последнее обусловлено тем, что действие адсорбированной вакцины направлено лишь на предотвращение заключительного этапа инфекционного процесса — поражения макроорганизма токсином сибиреязвенного микроба. Создание антиоксидантного иммунитета защищает от клинических проявлений заболевания, однако не исключает развития начальных стадий инфекционного процесса — колонизации *B. anthracis* в области входных ворот и инвазии во внутреннюю среду организма. Кроме того, по мнению некоторых исследователей, массовая вакцинация американских военнослужащих в начале 1990-х гг. химической вакциной на основе РА стала причиной развития у них болезни, названной «синдром войны в Персидском заливе». Дискуссия о причинах болезни продолжается до настоящего времени [3]³. Наличие такого количества противоречивых данных по эффективности химической вакцины на основе РА подтверждает правильность выбранного советскими микробиологами еще в 1940-е гг. курса на использование живых вакцин на основе бескапсульных штаммов *B. anthracis*.

Живые вакцины на основе бескапсульных штаммов *B. anthracis*. Ключевым моментом в повышении безопасности сибиреязвенных вакцин стало установление в середине 1930-х гг. роли капсулы возбудителя сибирской язвы в патогенезе болезни. Было установлено, что капсула — основной фактор вирулентности *B. anthracis*, однако она не связана с его иммуногенностью. В 1934 г. N. Stamatin (Румыния) впервые выделил бескапсульный штамм сибиреязвенного микроба (штамм 1190-Р) при длительном выращивании бацилл вирулентного штамма на свернутой дефибрированной или цитратной крови лошади. Изготовленная на основе этого штамма вакцина оказалась высокоиммуногенной в опытах на кроликах и овцах. В 1937 г. M. Sterne в Южной Африке получил другой бескапсульный иммуногенный штамм (34F2), выращивая вирулентные сибиреязвенные клетки на 50%-ном сывороточном агаре в атмосфере углекислого газа (10–30 об. %). В 1939 г. в Великобритании получен штамм Weybridge. До настоящего времени штаммы Sterne 34F2 и Weybridge используются во многих странах мира для вакцинации животных против сибирской язвы [2, 3, 14].

К внедрению в СССР в медицинскую практику бескапсульных живых сибиреязвенных вакцин вынуждали два обстоятельства: высокая заболеваемость сибирской язвой среди людей в южных регионах СССР и угроза бактериологической войны с применением противником возбудителя сибирской язвы. В 1930-х гг. Японией были развернуты вблизи дальневосточных границ СССР несколько центров по разработке биологического оружия — отряды 731, 100 и др. [15, 16].

В 1940 г. Н.Н. Гинсбург и А.Л. Тамарин, сотрудники Санитарно-технического института Красной армии (в настоящее время — ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России», г. Киров) получили бескапсульный штамм *B. anthracis* «Красная Нива» [14] получен бескапсульный штамм СТИ-1. А.Л. Тамариным из штамма ГИЭВ-Ш аналогичным образом выделен бескапсульный штамм *B. anthracis* — ГИЭВ-III бескапсульный (другие названия: НИИЭГ К-П, СТИ-3, третий вакцинный, № 3). В отличие от штамма СТИ-1 он разжижал сыворотку, а на твердом агаре обнаруживал некоторый полиморфизм колоний. С 1942 г. вакцина СТИ (взвесь спор в 30%-ном водном растворе глицерина) стала широко применяться в СССР для иммунизации животных и людей.

Новая сибиреязвенная вакцина потребовалась на фронте. Весной 1944 г., в ходе подготовки операции по освобождению Румынии, эпидемиологической разведкой было обнаружено большое количество очагов сибирской язвы на направлениях предполагаемого наступления. Вакциной СТИ-1 было привито 9000 военнослужащих, среди привитых заболеваний сибирской язвой выявлено не было [2].

В годы Великой отечественной войны советскими военными учеными в Санитарно-техническом институте Красной армии под руководством Н.Н. Гинсбурга разработаны технология лабораторного производства живой споровой вакцины, методы ее контроля и способы иммунизации животных. Основной вклад внесли коллективы под руководством А.Л. Тамарина, Н.А. Спицина, А.С. Груденкова и П.А. Кутырева. За разработку живой сибиреязвенной вакцины Н.Н. Гинсбургу и А.Л. Тамарину в 1943 г. была присуждена Сталинская премия [2]. Приоритет советских ученых в создании сибиреязвенных вакцин, предназначенных для иммунизации людей, признан западными исследователями [3].

Вакцину СТИ-1 широко использовали для вакцинации овец, коз, крупного рогатого скота, верблюдов, северных оленей и др. Однократная вакцинация, например, овец, создавала у них рано наступающий и напряженный иммунитет против экспериментального заражения сибирской язвой продолжительностью не менее года.

В начале 50-х гг. XX в. производство вакцины и штамма СТИ-1 были переданы из Министерства обороны СССР в Минздрав СССР. С 1962 г. по техническим причинам сибиреязвенную вакцину стали готовить на основе штамма СТИ-1 [17].

В 1946–1949 гг. С.Г. Колесов из трупa свиньи, павшей от сибирской язвы, выделил вариант *B. anthracis* Шуя-15 (Ш-15). В 1951–1952 гг. на его основе произвели вакцину ГНКИ (Государственный научно-контрольный институт бакпрепаратов Минсельхоза СССР), показавшую высокую иммуногенность в опытах на овцах. Вакцина ГНКИ содержала 20% глицерина и 40% трехпроцентной гидроокиси алюминия и в 1953–1955 гг. была внедрена в сельскохозяйственную практику при использовании в жидком виде под названием «гидроокисью алюминия сибиреязвенная вакцина ГНКИ». С 1961 г. эта вакцина без глицерина и гидроокиси алюминия (в сухом виде) применялась для вакцинации животных. Сравнительное изучение иммуногенных свойств вакцин СТИ-1 и ГНКИ путем постановки внутрикожных проб с сибиреязвенным аллергеном антраксином показало, что положительно реагировало 50,7% животных, привитых вакциной ГНКИ, и 53,5% животных, привитых вакциной СТИ [6].

Во Всесоюзном научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии (ВНИИВиМ) И.А. Бакуловым, В.А. Гавриловым и В.В. Селиверстовым создана вакцина на основе бескапсульного спорообразующего штамма сибиреязвенного микроба № 55, выделенного из организма свиньи. Вакцина на его основе вызывает у привитых животных продолжительный иммунитет [18]. В настоящее время выпускается под названием «Вакцина живая из штамма “55-ВНИИВиМ” против сибирской язвы животных лиофилизированная», используется только для иммунизации сельскохозяйственных животных.

В начале 1990-х гг. в России сложилась критическая ситуация с производством сибиреязвенных вакцин для медицинского применения. Производить такие вакцины было некому. К тому же все серии единственного производственного вакцинного штам-

³ Симптомы болезни: хроническая усталость, потеря управления мышцами, головные боли, головокружение, проблемы с памятью, рак мозга, амиотрофический склероз (болезнь Лу Герига), рассеянный склероз и др.

ма СТИ-1, приготовленные в Тбилисском НИИ вакцин и сывороток, имели либо истекающий (10 лет), либо истекшие сроки хранения (20 и 30 лет).

В 1992 г. организацию производства сибиреязвенных вакцин взяло на себя Министерство обороны Российской Федерации, используя научную базу ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России» (г. Киров). Военные исследователи установили, что вакцинный штамм СТИ-1, хранившийся в Тбилисском НИИ вакцин и сывороток, обладал резко выраженной гетерогенностью по иммуногенным и культурально-морфологическим свойствам, с делециями в гене *pag* (кодирует синтез РА сибиреязвенного токсина) и *lef* (кодирует синтез летального фактора сибиреязвенного токсина). Из предистории приготовления серий было известно, что маточная культура СТИ-1, лиофильно высушенная в 1962 г., была получена из микробной культуры 1943 г. приготовления, т.е. из родительского штамма, депонированного в ГИСК им. Л.А. Тарасевича в 1943 г. [2, 19, 20]. Маточная культура 1972 г. получена из микробной культуры СТИ-1, лиофильно высушенной в 1962 г., а микробная культура 1983 г. – из микробной культуры СТИ-1, лиофильно высушенной в 1972 г. Результаты изучения биологических свойств исходных эталонных микробных культур и приготовленных из них новых маточных культур показали, что в процессе длительного хранения при температуре 4–6°C с увеличением последовательных циклов приготовления, а, следовательно, пересевов на питательных средах, микробная культура штамма СТИ-1 изменяла свои культурально-морфологические свойства и не могла быть использована для приготовления вакцины.

Одной из возможных причин данного явления могло быть накопление в микробной популяции неиммуногенных «сапрофитизирующихся» мутантов, обладающих селективными преимуществами и при культивировании вытесняющих исходные высокоиммуногенные *B. anthracis* [21]. В ходе масштабной работы по сравнению иммуногенной активности штаммов из разных серий, было установлено, что микробная культура, лиофильно высушенная в 1962 г., приготовленная из родительского штамма, даже после длительного хранения сохранила высокую иммунологическую эффективность и имела сравнительно стабильные культурально-морфологические свойства [12–14].

Для повышения иммуногенности вакцинного штамма был применен метод пассажа культур на морских свинках с последующим высевом культуры и отбором клонов с признаками токсинообразования, способные эффективно экспрессировать ген *pag*. Отобранные по Тох-признаку клоны тестировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на наличие у них полноразмерного гена *pag* и лишь после этого использовали в дальнейшей работе. Тестирование по Тох-признаку и отбор клонов по ПЦР позволило предупредить возможное увеличение диссоциации культур при частых пересевах в неселектируемых условиях. Результаты исследований биологических свойств всех приготовленных серий культур вакцинного штамма СТИ-1 выявили их соответствие регламентным требованиям в отличие от эталонов 1972 и 1983 гг. приготовления. Маточные культуры, полученные пассажем и клоновым отбором, уже не содержали RO-форм, в популяциях культур отсутствовали клоны с делециями и утратой полноразмерного гена РА. Их иммуногенность более чем на порядок превышала таковую маточных культур 1972 и 1983 гг. сушки [22]. Россия снова получила эффективную живую бескапсульную сибиреязвенную вакцину. Одновременно в ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России» (г. Киров) была создана ресурсосберегающая и экологически чистая технология серийного производства живой сухой сибиреязвенной вакцины, предназначенной для иммунизации людей⁴.

Комбинированные вакцины. Основные недостатки живых вакцин – длительное формирование иммунитета к заражению возбудителем сибирской язвы (до 3–4 нед.) и относительно короткий период высокой специфической резистентности, что проявляется

⁴ За разработку данной технологии сотрудникам ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России» и Государственного научно-исследовательского института стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича Пименову Е.В., Васильеву Н.Т., Анисимовой Т.И., Климову В.И., Кожухову В.В., Садовому Н.В., Шевцову А.Н. и Кравцу И.Д. постановлением Правительства Российской Федерации от 17.03.1999 г. присуждена Премия Правительства Российской Федерации.

риском его «пробоя» в первые 5–14 сут и через 3 мес после иммунизации. В середине 1970-х гг. среди всех заболевших сибирской язвой от 6,4 до 27,7% составляли люди, ранее привитые живой бескапсульной вакциной [2, 13]. К тому же в случае генерализации сибиреязвенной инфекции у людей, вакцинированных живыми вакцинами, недостаточно эффективно предотвращались токсические эффекты, наблюдаемые на заключительной стадии болезни. В начале 1960-х гг. американскими исследователями (Klein, De Armon, Fernelius) предполагалось решить данную проблему путем перехода к комбинированной вакцинации: РА с последующим введением живой вакцины. Однако отказ от живых вакцин, закрепленный в США законодательно, привел к тому, что живые вакцины были исключены из схемы вакцинации на территории Соединенных Штатов [2].

В СССР такую схему вакцинации посчитали экономически неоправданной, и пошли по пути создания живой сибиреязвенной вакцины. В начале 1960-х гг. Г.В. Дунаевым [2, 13] было показано, что комбинированная иммунизация РА и живой споровой вакциной значительно повышает резистентность животных к заражению вирулентными сибиреязвенными культурами. Инициатором и организатором разработки комбинированной вакцины для медицинского применения был сотрудник филиала ФГБУ «48 ЦНИИ Минобороны России» в Екатеринбурге Н.В. Садовой. Задача устранения «пробоя» иммунитета в первые 5–14 сут и через 3 мес после иммунизации, была решена благодаря тому, что к спорам бескапсульного вакцинного штамма *B. anthracis* СТИ-1 (40–60 млн на одну прививочную дозу), был добавлен РА сибиреязвенного микроба (30–40 ИД₅₀)⁵, сорбированный на носителе и/или находящийся в простой смеси со спорами вакцинного штамма *B. anthracis*⁶ [23].

Сопоставляя значения показателей косвенных тестов и уровня защищенности против подкожного и ингаляционного заражения вирулентными культурами сибиреязвенного микроба, определенные на экспериментальных животных, с динамикой клеточных и гуморальных показателей специфической резистентности у людей, сотрудники 48 ЦНИИ МО РФ получили доказательства, что напряженный иммунитет после однократного применения комбинированной сибиреязвенной вакцины обеспечивает защиту от развития инфекции не менее чем у 80–90% привитых. Прочный иммунитет формируется к 7–10 сут и сохраняется в течение 6 мес, а через 9–12 мес определяется примерно у 50–70% вакцинированных. Наряду с этим, высокий уровень специфической резистентности после однократного применения живой вакцины (СТИ-1) развивается к 21 сут у 55–65%, сохраняется до 4 мес у 30–40%, до 6 мес — у 15–20% и до 9–12 мес лишь у 5–10% привитых. После аппликации адсорбированной вакцины (вакцина на основе РА) иммунитет формируется к 7–10 сут у 70–80% и сохраняется до 4 мес. только у 10–15% вакцинированных [23].

Сибиреязвенные вакцины на основе штаммов-продуцентов близкородственных бацилл, полученные по технологии рекомбинантного ДНК. Работы по получению таких вакцин ведутся с начала 1980-х гг. в США и Великобритании. Объективной причиной формирования направления стала протеолитическая активность вакцинных штаммов сибиреязвенного микроба, использовавшихся в качестве продуцентов РА. Накопление во время глубинного культивирования в культуральной среде протеолитических ферментов, приводит к снижению выхода РА, что не устраивает производителей химических вакцин. А так как для вакцинации в этих странах живые бескапсульные вакцины не используют, то проблему низкого выхода РА надо решать. Поэтому и были начаты работы по переклонированию гена РА в другие продуценты. Из-за сложности технологий рекомбинантного ДНК на них возлагались большие надежды, а вакцины, которые предполагалась получить с их использованием, отнесли к «вакцинам будущего», не разработав даже вакцинного препарата, охарактеризованного в доклинических исследованиях.

⁵ ИД₅₀ — среднееффективная иммунизирующая единица для белых мышей [24].

⁶ На разработанную в 48 ЦНИИ МО РФ вакцину выдан патент Российской Федерации № 2115433. Авторы изобретения Садовой Н.В., Кравец И.Д., Селиваненко Г.М., Харченко А.Т., Садовая Е.А., Васильев П.Т., Литусов Н.В., Елагин Г.Д., Супотницкий М.В. (дата приоритета изобретения 28.08.1992).

В 1983 г. М. Vodkin и С. Н. Leppla [25] клонировали ген PA в кишечной палочке. Иммунологическими методами ими были отобраны два трансформанта *E. coli* (pSE24 и pSE36), содержащие рекомбинантные плазмиды. Оба трансформанта синтезировали биологически и серологически активный PA в количествах от 5 до 10 нг/мл, что почти в 1000 раз меньше, чем синтезировал штамм Sterne, сами рекомбинантные плазмиды оказались нестабильными. Тогда же В.Е. Ivins и S.L. Welkos [26] поставили перед собой задачу добиться уровня экспрессии клонированного гена PA, сопоставимого с тем, что наблюдали у штамма Sterne, и на основе аспорогенного штамма *B. subtilis* 1S53 получить рекомбинантный штамм, пригодный для использования в качестве живой сибиреязвенной вакцины. Они получили два клона *B. subtilis* с рекомбинантными плазмидами, включающими гены PA. Выход PA в жидкой среде составлял от 20,5 до 41,9 мкг/мл, что уже приближалось к уровню продуктивности штамма Sterne, однако исследователям не удалось преодолеть проблему нестабильности рекомбинантных плазмид⁷. Результаты, полученные В.Е. Ivins и S.L. Welkos [26], были воспроизведены в других лабораториях, однако они не оправдали ожиданий исследователей. Р.С. Turnbull установил, что протективные свойства одного из вариантов рекомбинантного PA, полученного из *B. subtilis*, при заражении экспериментальных животных несколькими вирулентными штаммами значительно ниже, чем в случае использования живой вакцины [27]. Г.Г. Онищенко с соавт. [19] считают, что основные трудности получения рекомбинантных штаммов-продуцентов PA создаются следующие факторы:

PA, синтезируемый клеткой штамма-продуцента, уже в низких концентрациях за счет гидрофобных участков молекулы формирует трансмембранные каналы, повреждающие клеточную стенку. Поэтому усиливая экспрессию гена PA, нельзя добиться его высокого выхода из-за гибели штамма-продуцента; «обойти» необходимость синтеза цельного PA путем клонирования генов небольших гидрофильных участков его молекулы с эпитопами иммуногенности невозможно из-за отсутствия информации о точной локализации этих эпитопов и сложностей конструирования такой плазмидной молекулы;

высокая иммуногенность PA определяется его мультимерностью, что теоретически можно достичь, но трудно проконтролировать степень мультимеризации молекулы и все возможные эффекты, возникающие при синтезе мультимеров клеткой (протеазочувствительность; наличие участков, токсичных для клетки и др.).

В последние 15 лет работы шли не только в направлении создания высокопродуктивных штаммов-продуцентов PA, но и получения вакцин на основе живых вакцинных штаммов других микроорганизмов (*E. coli*, *F. tularensis*, *Y. pestis*, *Salmonella*, *B. subtilis*), способных к персистенции в организме человека или обладающих адьювантными свойствами (лактобациллы). По мнению Г.Г. Онищенко с соавт. [19], в этом направлении пока не удалось добиться больших успехов, в частности, касающихся эффективности экспрессии PA, конструирования и экспериментального производства вакцин.

Возможно, более оптимальным является получение в качестве продуцентов PA аспорогенных вакцинных штаммов с пониженной протеолитической активностью [19]. Однако каким бы способом не был получен PA, вакцина на его основе не может быть более эффективной и при этом более дешевой и простой в применении, чем вакцина на основе живых бескапсульных штаммов *B. anthracis*. Поэтому наиболее оптимальной для иммунизации, особенно тогда, когда необходимо быстро создать иммунитет у человека к ингаляционному заражению возбудителем сибирской язвы, в ближайшие десятилетия будет отечественная комбинированная вакцина, сочетающая живые бескапсульные штаммы *B. anthracis* и PA.

Российские ученые со второй половины XIX в. и на протяжении всего XX в. занимали лидирующие позиции в разработке сибиреязвенных вакцин. Им принадлежит мировой приоритет в создании сибиреязвенных вакцин, предназначенных для медицинского применения и вакцин, способных эффективно защищать от ингаляционного поражения спорами возбудителя сибирской язвы. Своевременно выявленные перспективные направления создания таких вакцин, технологий производства, оценки их качества и способов массовой вакцинации создали серьезный задел на десятилетия вперед, позволяющие Российской Федерации (СССР) защитить население от всплеск сибирской язвы и актов биологического террора.

Российские ученые со второй половины XIX в. и на протяжении всего XX в. занимали лидирующие позиции в разработке сибиреязвенных вакцин. Им принадлежит мировой приоритет в создании сибиреязвенных вакцин, предназначенных для медицинского применения и вакцин, способных эффективно защищать от ингаляционного поражения спорами возбудителя сибирской язвы. Своевременно выявленные перспективные направления создания таких вакцин, технологий производства, оценки их качества и способов массовой вакцинации создали серьезный задел на десятилетия вперед, позволяющие Российской Федерации (СССР) защитить население от всплеск сибирской язвы и актов биологического террора.

Литература:

1. Губерт ВО. Оспа и оспопрививание. СПб.; 1896.
2. Онищенко ГГ, Васильев НТ., Литусов НВ, Харечко НГ, Васильев ПГ, Садовой НВ. и др. Сибирская язва: Актуальные аспекты микробиологии, эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики. М.: ВУНМЦ МЗ РФ; 1999.
3. Artenstein AW. Vaccines: A Biography. New York – Dordrecht – Heidelberg – London: Springer; 2010.
4. Ivanovs G, Bruckner V. Die chemische struktur der kapsel substanz des milzbrandbazillus und der serologisch identischen spezifischen substanz des Bacillus mesentericus. Z Immunitatsforsch Exp Ther. 1937; 90(3): 304–18.
5. Вышелесский СН. Сибирская язва. М.; 1934.
6. Шляхов ЭН. Эпидемиология, диагностика и профилактика сибирской язвы. Кишинёв: Картя Молдовеняскэ; 1960.
7. Терентьев ФА. Борьба с сибирской язвой. Ветеринария 1947; 11: 28–30.
8. Архипова ВР. Разработка эталона живой сибиреязвенной вакцины. В кн.: Антракс. Кишинёв; 1964. С. 121–3.
9. Латенко ЯП, Кириленко ВА, Залевский ЛН. Заболевание сибирской язвой в результате неосторожного обращения с вакциной. Врачебное дело 1961; (3): 122–3.
10. Smith H, Keppie J. Observations on experimental anthrax; demonstration of a specific lethal factor produced in vivo by Bacillus anthracis. Nature 1954; 173(4410): 869–70.
11. Oncü S, Oncü S, Sakarya S. Anthrax – an overview. Med Sci Monit. 2003; 9(11): 276–83.
12. Mourez M, Lacy DB, Cunningham K, Legmann R, Sellman BR, Mogridge J et al. 2001: a year of major advances in anthrax toxin research. Trends in Microbiol. 2002; 10(6): 287–93.
13. Бургасов ПН, Рожков ГИ. Сибирская язва. М.; 1984.
14. Гинсбург НН. Живые вакцины. М.: Медицина; 1969.
15. Доклад Международной научной комиссии по расследованию фактов бактериологической войны в Корее и Китае. Пекин; 1952.
16. Моримура С. Кухня дьявола. М.; 1983.
17. Маринин ЛИ, Онищенко ГГ, Степанов АВ, Старицын НВ, Померанцев АП, Алешкин ВА, и др. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. М.: ВУНМЦ МЗ РФ; 1999.
18. Бакулов ИА, Гаврилов ВА. Оценка эффективности 10-летнего применения вакцины против сибирской язвы животных из штамма 55-ВНИИ ВилМ. Ветеринария 1994; (8): 11–5.
19. Онищенко ГГ, Кожухов ВВ, Васильев НТ, Бондарев ВП, Борисевич ИВ, Дармов ИВ и др. Сибирская язва: Актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты. М.: Медицина; 2010.
20. Гинсбург НН. Сибиреязвенная вакцина СТИ (ревьюиз вопроса о происхождении и сущности вакцинных штаммов). В кн.: Сборник работ НИИЭГ КА. М.; 1946. Вып. 1. С. 5–90.
21. Иванов ВН, Угодчиков ГА. Клеточный цикл микроорганизмов и гетерогенность их популяции. Киев; 1984.
22. Сероглазов ВВ, Кожухов ВВ, Строчков ЮИ, Амосов МЮ. Способ поддержания сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1. Патент Российской Федерации, № 2142009; 1999.
23. Садовой НВ, Кравец ИД, Селиваненко ГМ, Харечко ГС, Садовая ЕА, Васильев ПГ, Литусов НВ, Елагин ГД, Супотницкий МВ. Вакцина сибиреязвенная комбинированная. Патент Российской Федерации, № 2115433; 1992.
24. Дербин МИ, Кузьмич МК, Гарин НС и др. Получение и изучение сибиреязвенного антигена. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии 1977; (2): 63–7.
25. Vodkin M, Leppla SN. Cloning of the protective antigen gene of Bacillus anthracis. Cell 1983; 34: 693–6.
26. Ivins BE, Welkos SL. Cloning and expression of the Bacillus anthracis protective antigen gene in Bacillus subtilis. Infect Immun. 1986; 54(2): 537–42.
27. Turnbull PC. Current status of immunization against anthrax: old vaccines may be here to stay for a while. Cur Opin Infect Dis. 2000; 13(2): 113–20.

References

1. Gubert VO. Smallpox and its vaccination. St. Petersburg; 1896 (in Russian).
2. Onischenko GG, Vasiliev NT, Litusov NV, Harechko NG, Vasiliev PG, Sadovoy NV, et al. Anthrax: Current aspects of microbiology, epidemiology,

⁷ В 2008 г. В.Е. Ivins (1949–2008) обвинен американским правосудием в подготовке и осуществлении в США осенью 2001 г. биотеррористического акта, в результате которого погибло 5 человек, вскоре его нашли отравленным в собственном доме. Не приходя в сознание, он скончался в Frederick Memorial Hospital (Фредерик, шт. Мэриленд, США).

- clinical picture, diagnosis, treatment and prevention. Moscow: VUNMC MZ RF; 1999 (in Russian).
3. Artenstein AW. Vaccines: A Biography. New York – Dordrecht – Heidelberg – London: Springer; 2010.
 4. Ivanovs G, Bruckner V. Die chemische struktur der kapsel substanz des milzbrandbazillus und der serologisch identischen spezifischen substanz des Bacillus mesentericus. Z Immunitatsforsch Exp Ther. 1937; 90(3): 304–18.
 5. Vyshel'skiy SN. Anthrax. Moscow; 1934 (in Russian).
 6. Shlyahov EN. Epidemiology, diagnosis and prevention of anthrax. Chisinau: Kartya Moldovenyaskie; 1960 (in Russian).
 7. Terentiev FA. The fight against anthrax. Veterinariya 1947; 11: 28–30 (in Russian).
 8. Arhipova VR. The development of the standard of living anthrax vaccine. In: Anthrax. Chisinau; 1964. P. 121–3 (in Russian).
 9. Latenko YaP, Kirilenko VA, Zalevskiy LN. Anthrax as a result of careless handling of the vaccine. Vrachebnoe delo 1961; (3): 122–3 (in Russian).
 10. Smith H, Keppie J. Observations on experimental anthrax; demonstration of a specific lethal factor produced in vivo by Bacillus anthracis. Nature 1954; 173(4410): 869–70.
 11. Oncü S, Oncü S, Sakarya S. Anthrax – an overview. Med Sci Monit. 2003; 9(11): 276–83.
 12. Mourez M, Lacy DB, Cunningham K, Legmann R, Sellman BR, Mogridge J et al. 2001: a year of major advances in anthrax toxin research. Trends in Microbiol. 2002; 10(6): 287–93.
 13. Burgasov PN, Rozhkov GI. Anthrax. Moscow; 1984 (in Russian).
 14. Ginsburg NN. Living vaccines. Moscow: Meditsina; 1969 (in Russian).
 15. Report of the International Scientific Commission of inquiry of the facts of bacteriological warfare in Korea and China. Beijing; 1952 (in Russian).
 16. Morimura S. Devil's Kitchen. Moscow; 1983 (in Russian).
 17. Marinin LI, Onischenko GG, Stepanov AV, Staritsyn NV, Pomerantsev AP, Aleshkin VA, et al. Microbiological diagnosis of anthrax. Moscow: VUNMC MZ RF; 1999 (in Russian).
 18. Bakulov IA, Gavrilo VA. Evaluating the effectiveness of a 10-year use of a vaccine against anthrax strain of animals from 55-VNII ViM. Veterinariya 1994; (8): 11–5 (in Russian).
 19. Onischenko GG, Kozhuhov VV, Vasiliev NT, Bondarev VP, Borisevich IV, Darmov IV, et al. Anthrax: Actual problems of development and implementation of health protection. Moscow: Meditsina; 2010 (in Russian).
 20. Ginsburg NN. Anthrax vaccine STI (revision of the origin and nature of vaccine strains). In: A collection of papers NIIEG KA. Moscow; 1946. Vol. 1. P. 5–90 (in Russian).
 21. Ivanov VN, Ugodchikov GA. The cell cycle of microorganisms and heterogeneity of their populations. Kiev; 1984 (in Russian).
 22. Seroglazov VV, Kozhuhov VV, Stochkov Yul, Amosov MYU. A method of maintaining the anthrax vaccine strain STI-1. Patent of the Russian Federation, № 2142009; 1999 (in Russian).
 23. Sadovoy NV, Kravets ID, Selivanenko GM, Harechko GS, Sadovaya EA, Vasiliev PG, Litusov NV, Elagin GD, Supotnitskiy MV. Anthrax vaccine combined. Patent of the Russian Federation, № 2115433; 1992 (in Russian).
 24. Derbin MI, Kuzmich MK, Garin NS, et al. Preparation and study of anthrax antigen. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii 1977; (2): 63–7 (in Russian).
 25. Vodkin M, Leppla SN. Cloning of the protective antigen gene of Bacillus anthracis. Cell 1983; 34: 693–6.
 26. Ivins BE, Welkos SL. Cloning and expression of the Bacillus anthracis protective antigen gene in Bacillus subtilis. Infect Immun. 1986; 54(2): 537–42.
 27. Turnbull PC. Current status of immunization against anthrax: old vaccines may be here to stay for a while. Cur Opin Infect Dis. 2000; 13(2): 113–20.

Authors:

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre on Expert Evaluation of Medical Application Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 8 Petrovsky Boulevard, Moscow, 127051, Russian Federation.

Supotnitskiy MV. Deputy Director of Center of planning and coordination of scientific research. Candidate of Biological Sciences.

Borisevich IV. Director of Center for the planning and coordination of scientific research. Doctor of Medical Sciences, professor.

Klimov VI. Deputy director of Center of planning and coordination of scientific research. Candidate of Medical Sciences.

Branch Office of Federal State Budgetary Institution «48 Central Research and Testing Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 118 Oktyabrsky prospect, Kirov, 610000, Russian Federation.

Shevtsov AN. Leading researcher. Doctor of Biological Sciences.

Lub MYU. Senior researcher. Candidate of Medical Sciences.

Tumanov AS. Head of Branch Office. Candidate of Medical Sciences.

Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 126051, Москва, Петровский бульвар, 8.

Супотницкий Михаил Васильевич. Заместитель директора Центра планирования и координации научно-исследовательских работ, канд. биол. наук.

Борисевич Игорь Владимирович. Директор Центра планирования и координации научно-исследовательских работ, д-р мед. наук, профессор.

Климов Владимир Иванович. Заместитель директора Центра планирования и координации научно-исследовательских работ, канд. мед. наук.

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский проспект, 118.

Шевцов Александр Николаевич. Ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук.

Луб Михаил Юрьевич. Старший научный сотрудник, канд. мед. наук.

Туманов Александр Сергеевич. Начальник Филиала, канд. мед. наук.

Адрес для переписки: Супотницкий Михаил Васильевич; Supotnitskiy@expmed.ru

Поступила 11.03.2015 г.

Принята 20.05.2015 г.