

# ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АДЬЮВАНТОВ НА ИММУНОГЕННОСТЬ КОМПОНЕНТОВ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ В

Суворов А.Н.<sup>1</sup>, Леонтьева Г.Ф.<sup>1</sup>, Мерингова Л.Ф.<sup>1</sup>,  
Грабовская К.Б.<sup>1</sup>, Гупалова Т.В.<sup>1</sup>, Воробьева Е.И.<sup>1</sup>,  
Симбирцев А.С.<sup>2</sup>, Колобов А.А.<sup>2</sup>, Тотолян Артем А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИЭМ РАМН, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ГосНИИ особо чистых биопрепаратов ФМБА РФ, Санкт-Петербург

**Резюме.** Создание безопасной и эффективной вакцины против патогенных стрептококков до сих пор остается нерешенной задачей, несмотря на многочисленные разработки в различных лабораториях мира. Вакцины на основе рекомбинантных полипептидов обладают недостаточной иммуногенностью, поэтому успех иммунизации в значительной степени зависит от эффективности используемых адьювантов. Ранее нами были синтезированы и изучены два рекомбинантных полипептида СГВ, обладающих свойствами вакцинных препаратов. Полипептиды ScaAB и P6 являлись иммуногенными, их введение в виде монопрепаратов или в смеси стимулировало выработку специфических антител, в том числе и высокоаффинных. В настоящей работе представлены результаты сравнительного анализа адьювантной активности четырех различных иммуномодуляторов: полного адьюванта Фрейнда, гидроокиси алюминия и двух иммуномодуляторов нового поколения – Бестима и Интерлейкина-1β. Было показано, что в процессе вакцинации животных индивидуальными препаратами и смесью рекомбинантных полипептидов СГВ наилучшими адьювантными свойствами в ряду разрешенных для человека препаратов обладала гидроокись алюминия. Введение смеси полипептидов совместно с гидроокисью алюминия способствовало проявлению наивысшей опсонизирующей активности специфических антисывороток в отношении СГВ.

*Ключевые слова:* вакцины, иммуногенность, адьюванты, стрептококки группы В.

*Suvorov A.N., Leontyeva G.F., Meringova L.F., Grabovskaya K.B., Gupalova T.V., Vorobyeva E.I., Simbirtsev A.S., Kolobov A.A., Totolian Artem A.*

## EFFECTS OF DIFFERENT ADJUVANTS UPON IMMUNOGENICITY OF ANTI-GROUP B STREPTOCOCCAL VACCINE COMPONENTS

**Abstract.** Design of an effective and safe vaccine against pathogenic streptococci is still on the agenda, in spite of numerous attempts in this area undertaken by different laboratories. In order to improve immunogenicity of recombinant vaccine preparations, a selection of effective adjuvants is necessary. Previously, two recombinant GBS polypeptides P6 and ScaAB were found to be immunogenic, and their injection in separate preparations or mixed manner boosted production of specific and protective antibodies with high affinity. Four different adjuvants (Freund adjuvant, aluminum hydroxide, Bestim and Interleukine-1β) have been tested for immunization of mice with single polypeptides,

### **Адрес для переписки:**

Суворов Александр Николаевич  
197376, Санкт-Петербург,  
ул. Академика Павлова, 12,  
ГУ НИИЭМ РАМН.  
Тел.: (812) 234-05-42.  
Факс: (812) 234-94-77.  
E-mail: Alexander\_suvorov1@hotmail.com

or with their mixtures. As a result of vaccination, it was demonstrated that aluminum hydroxide was providing the most desirable immunological parameters of immune response among the adjuvants tested. A mixture of polypeptides containing aluminum hydroxide was found to produce specific antibodies with better opsonizing activity against group B streptococci. (*Med. Immunol.*, 2008, vol. 10, N 2-3, pp 215-222)

## Введение

В настоящее время вакцинопрофилактика стрептококковых заболеваний в группах риска является одним из актуальных и быстро развивающихся научных направлений в области клинической микробиологии. Это обусловлено значимостью стрептококковой патологии в целом (известно, что стрептококки являются наиболее распространенными возбудителями бактериальных инфекций человека [19]), а также недостаточной эффективностью терапевтических подходов при лечении стрептококковых заболеваний. Несмотря на многочисленные разработки экспериментальных вакцин в различных лабораториях мира, создание безопасной и эффективной вакцины против патогенных стрептококков для практики здравоохранения пока остается нерешенной задачей.

Проблема создания вакцин на основе рекомбинантных технологий требует подбора таких антигенов, иммунный ответ к которым обеспечивает продолжительный и напряженный иммунитет к заболеванию. Важнейшим компонентом такого рода вакцины является эффективный вакцинный адъювант.

В исследованиях по созданию рекомбинантной вакцины против стрептококков группы В (СГВ) ранее были отобраны два рекомбинантных полипептида ScaAB и P6, созданных на основе соответствующих поверхностных белков [4]. Установлено, что оба полипептида являются иммуногенными, их введение в виде монопрепаратов или в смеси стимулирует выработку специфических антител, в том числе и высокоаффинных, способных циркулировать в крови в течение нескольких месяцев и обеспечивать защиту от СГВ. Антитела обеих специфичностей опсонизируют штаммы гомологичных серотипов СГВ, а в случае ScaAB опсонизирующая активность отмечена не только в отношении широкого круга серотипов СГВ, но и стрептококков группы А. В настоящем исследовании на разработанной ранее модели был проведен сравнительный анализ адъювантной активности четырех различных препаратов: полного адъюванта Фрейнда, гидроокиси алюминия и двух иммуномодуляторов нового поколения — Бестима и Интерлейкина-1 $\beta$  [6, 7].

## Материалы и методы

**Рекомбинантные полипептиды.** Рекомбинантные полипептиды P6 и ScaAB были получены из сконструированных ранее штаммов-продуцентов *E.coli* и выделены, как описано нами ранее [20, 22].

**Адъюванты.** В работе использовали: адъювант Фрейнда («Sigma», США), гидроокись алюминия (Imject Alum, «Pierce»), препараты Бестим (синтетический пептид  $\gamma$ -D-глутамил-L-триптофан)

и Беталейкин (рекомбинантный Интерлейкин-1 $\beta$  человека) производства ГосНИИ особо чистых биопрепаратов (Санкт-Петербург).

**Иммунизация животных.** Эксперименты были проведены на беспородных мышах — самцах, массой 16-18 г, полученных из питомника «Рап-полово» РАМН.

При иммунизации с адъювантом Фрейнда и гидроокисью алюминия рекомбинантные полипептиды вводили двукратно, подкожно, первый раз с адъювантом в объеме 0,2 мл (1 : 1) в дозах 30 и 20 мкг/мышь для P6 и ScaAB, соответственно, второй раз через 21 день в половинной дозе без адъюванта. Иммунизацию смесью полипептидов проводили, сохраняя те же индивидуальные дозы препаратов P6 и ScaAB.

Иммунизацию с Бестимом и Беталейкином проводили по схеме, рекомендованной производителем препаратов. Дважды с интервалом в 1 сутки адъювант вводили подкожно в объеме 0,1 мл в дозе 1,0 и 0,1 мкг/кг для Бестима и Беталейкина, соответственно. На третий день препараты вводили в смеси с адъювантом в объеме 0,2 мл (1 : 1) в дозах 30 и 20 мкг/мышь для P6 и ScaAB, соответственно, а затем повторно через 21 день в половинной дозе без адъюванта. Иммунизацию смесью полипептидов проводили сохраняя те же дозы препаратов P6 и ScaAB.

Титр антител (IgG) определяли с 21-го по 50-й дни от начала иммунизации с интервалом в две недели.

**Определение титра антител.** Титры антител определяли в иммуноферментном анализе (ИФА «сэндвич»), используя планшеты высокой сорбционной емкости «Costar», США. Каждую сыворотку исследовали в 3-х повторах, контролем служила сыворотка интактных животных.

**Определение константы связывания.** Для оценки аффинитета антител исследуемую сыворотку в разведении 1 : 100 инкубировали в растворе с возрастающим количеством соответствующего антигена (0,12-30 мкг/мл), не связавшиеся антитела регистрировали в ИФА. Каждая точка кривой титрования была продублирована трижды. Расчет значений констант связывания ( $K_s$ ) и доли антител с данной величиной  $K_s$  проводили с помощью компьютерной программы пакета «Polyconst» [3].

**Анализ опсонизирующей активности антисывороток.** Опсонизирующую активность антисывороток изучали на суточном монослое мышинных перитонеальных макрофагов, полученном общепринятым способом [12]. Монослой отмывали от антибиотиков и вносили суспензию СГВ штамм 5/70 серотипа Iac в концентрации  $1 \times 10^7$  КФЕ/мл. Бактерии предварительно инкубировали в течение 30 минут с нормальной и экспериментальными мышинными сыворот-

ками, разведенными средой в 50 раз. После 30 минут контакта макрофагов с опсонизированными бактериями монослой клеток тщательно отмывали от неприкрепившихся стрептококков. Все описанные выше этапы проводились в среде IMDM при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Препараты фиксировали абсолютным спиртом, окрашивали эозином и азуром. Исследование в одном опыте проводили в 3 параллелях, в каждой из них исследовали не менее 100 клеток, подсчитывая процентную долю макрофагов, инфицированных стрептококками, и среднее число кокков на одну клетку. Опсонизирующую активность оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ), который представляет собой произведение обоих показателей. Результаты одного опыта усредняли и обрабатывали по методу Стьюдента—Фишера.

## Результаты

### Гуморальный иммунный ответ на введение монопрепаратов Р6 и ScaAB

Исследуемые препараты вводили лабораторным животным по схемам, указанным в разделе «Материалы и методы». Гуморальный иммунный ответ оценивали в четырех группах животных, получавших в качестве адьюванта полный адьювант Фрейнда (группа ПАФ), гидроокись алюминия (группа А), Бестим (группа Б) и Беталейкин (группа И).

Через три недели после первичной иммунизации животных монопрепаратом Р6 (рис. 1А) специфические антитела в небольших концентрациях обнаруживали только в группах ПАФ и А.

Повторное введение антигена приводило к накоплению антител во всех исследованных группах. Через две недели после второй иммунизации (35 день от начала эксперимента) одинаково высокие титры Р6-специфических антител (1 : 12 800) были зарегистрированы в группах ПАФ, А, И. Наименьший прирост антител был отмечен в группе Б.

На 50 день от начала эксперимента продолжился рост Р6-специфических антител в группе ПАФ, в группе А сохранялся прежний уровень иммунного ответа, а в группе И наметилась тен-

денция к снижению уровня специфических IgG. Содержание Р6-специфических антител в группе Б продолжало оставаться стабильно низким.

При иммунизации препаратом ScaAB (рис. 1Б) появление небольшого количества специфических антител на 21 первый день после первичного введения препарата было отмечено в группах ПАФ, А, И.

После второй иммунизации накопление ScaAB-специфических антител проходило менее интенсивно по сравнению с Р6-специфическими IgG, однако адьювантный эффект ПАФ и А также был наибольшим (1 : 3200). Наименьший прирост антител отмечался в группе Б.

На 50 день от начала эксперимента титр антител в группе А не изменился, в группе ПАФ упал вдвое, в группе И — вчетверо. Содержание специфических IgG в группе Б было самым низким.

### Иммунный ответ на введение смеси препаратов Р6 и ScaAB

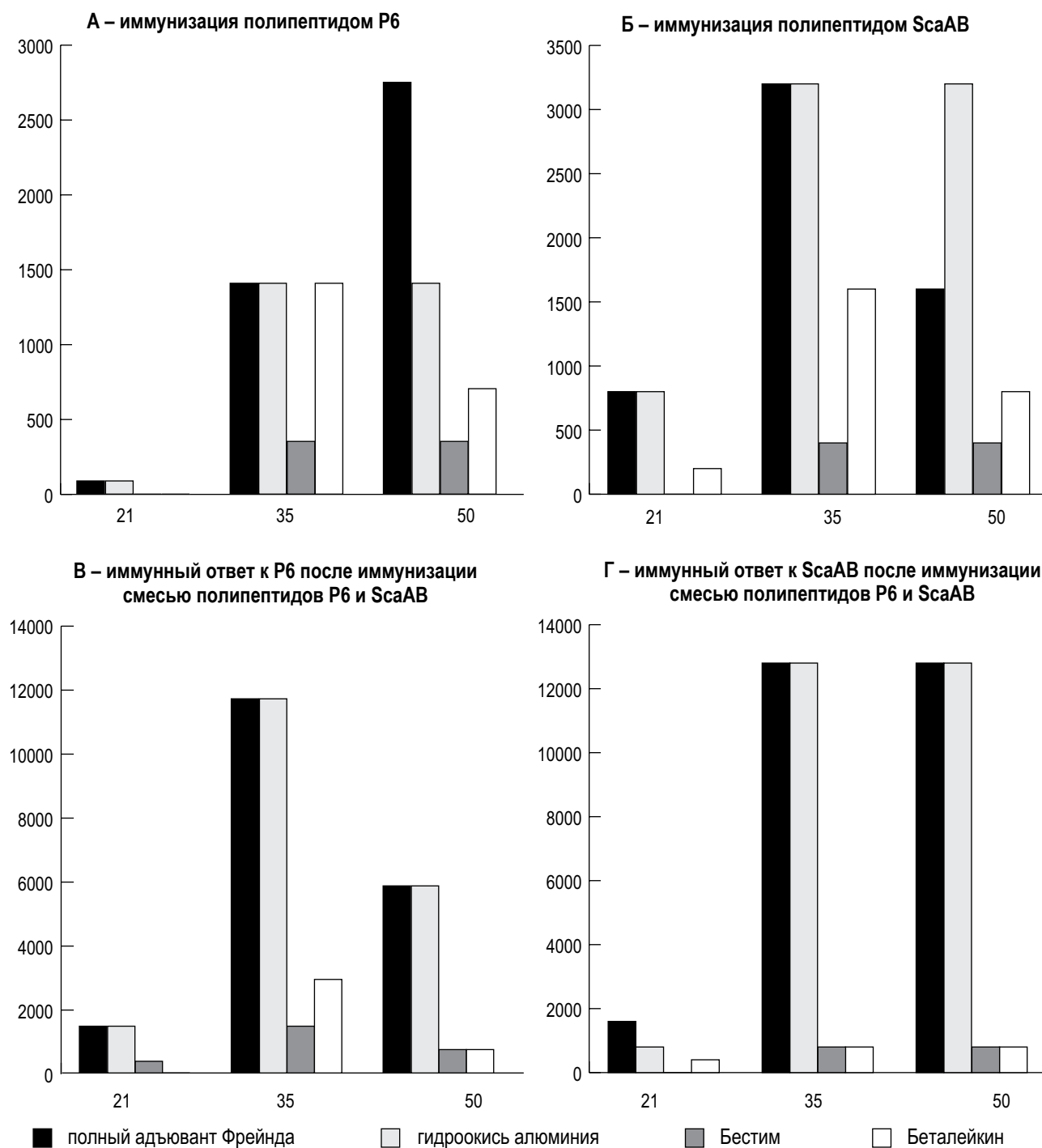
Применение комплексной рекомбинантной вакцины, представляющей собой смесь полипептидов Р6 и ScaAB, как уже было показано нами ранее [8], существенно меняет показатели динамики антителообразования, полученные для каждого компонента при индивидуальном введении. Однако приведенные в предыдущем разделе соотношения адьювантной активности исследуемых препаратов при использовании смеси белков сохранились. На рисунке 1 (В, Г) представлены результаты анализа антисывороток животных, иммунизированных смесью препаратов. В каждой антисыворотке определяли Р6- и ScaAB-специфические антитела.

Общий уровень Р6-специфического иммунного ответа при иммунизации смесью полипептидов снизился (1В) по сравнению с показателями иммунного ответа на монопрепарат. Во всех группах максимальные значения титров были достигнуты на 35 день от начала иммунизации, к 50 дню отмечали тенденцию снижения титра антител. Наивысшие показатели иммунного ответа отмечали в группах ПАФ и А. В отличие от иммунизации полипептидом Р6, уровень ScaAB-специфического иммунного ответа на введение смеси препаратов

ТАБЛИЦА. АФФИНИТЕТ\* СПЕЦИФИЧЕСКИХ СЫВОРОТОЧНЫХ АНТИТЕЛ

Вакцинный препарат	Специфичность определяемых антител	Группы экспериментальных животных**			
		ПАФ	А	Б	И
Р6	Р6	8 (0,6); 9 (0,4)	8 (0,6); 9 (0,4)	8 (1,0)	7 (1,0)
ScaAB	ScaAB	7 (0,4); 9 (0,6)	7 (0,5); 9 (0,5)	7 (1,0)	7 (1,0)
Р6 + ScaAB	Р6	8 (0,6); 9 (0,4)	8 (0,5); 9 (0,5)	8 (1,0)	7 (1,0)
	ScaAB	7 (0,2); 9 (0,8)	8 (0,5); 9 (0,5)	7 (1,0)	7 (1,0)

Примечания: \* – выражен в Ig Кс, в скобках указана относительная доля антител с данным аффинитетом; \*\* – исследованы антисыворотки, полученные на пике иммунного ответа.



**Рисунок 1. Влияние адъювантов на иммуногенность вакцинных монопрепаратов и их смеси**

**Примечание:** по оси абсцисс: время от начала эксперимента в днях; по оси ординат: обратные значения титра сыворотки.

существенно возрос в группах ПАФ и А (1Г), причем для группы ПАФ на 50 день от начала эксперимента не было отмечено снижения иммунного ответа, как это было зарегистрировано при введении монопрепарата ScaAB. Применение препаратов Бестим и Беталейкин не приводило к повышению специфического иммунного ответа на компоненты препарата, так же как и вакцинация индивидуальными полипептидами.

#### Аффинитет специфических антител при иммунизации монопрепаратами полипептидов и их смесью

На пике иммунного ответа в сыворотках мышей из всех экспериментальных групп была проведена оценка аффинитета циркулирующих антител. В таблице приведены значения констант связывания (Kс) антигенов Р6 и ScaAB с соответствующими специфическими антителами, полученные

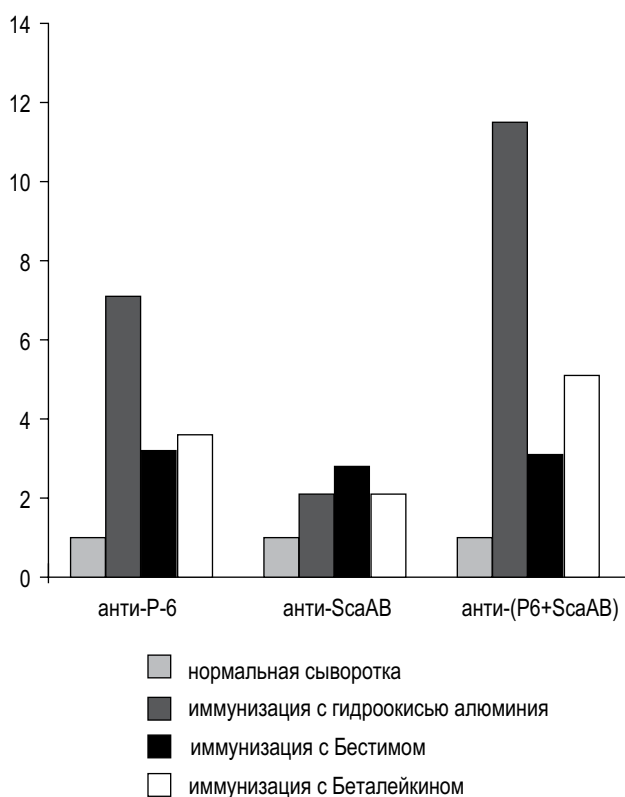
ми на 35 день от начала эксперимента, а также относительные доли антител с данным значением Кс. Аффинитет антител не зависел от формы введения препаратов, но зависел от использованного адьюванта. Наибольшее сродство антител к соответствующему антигену было отмечено при введении полипептидов совместно с ПАФ и А, когда значения Кс достигали  $10^9 \text{ M}^{-1}$ . При использовании в качестве адьювантов Бестима и Беталейкина аффинитет антител был более низким, значения Кс соответствовали  $10^7 \text{ M}^{-1}$ .

### Опсонизирующие свойства специфических антител

Эффективность иммунного ответа, в случае бактериальной инфекции, определяется способностью специфических антител опсонизировать микроорганизмы, тем самым существенно ускоряя их элиминацию путем фагоцитоза.

В опсонофагоцитарном тесте на монослое перитонеальных макрофагов была изучена опсонизирующая активность специфических мышинных антисывороток, полученных на 35 день от начала эксперимента (рис. 2).

Установлено, что антисыворотки животных из всех исследуемых групп опсонизировали стрептококки группы В. Показатели прироста фагоцитарного индекса ФИ (интегрального показателя степени инфицированности монослоя)



**Рисунок 2.** Опсонизирующая активность P6- и ScaAB-специфических антисывороток в отношении СГВ

**Примечание:** по оси ординат – кратность прироста показателя ФИ по отношению к контролю.

были наивысшими в группе А. Характерно, что данные по опсонизации не всегда коррелировали с показателями титра антител в исследуемой сыворотке. Так, например, при самом низком титре антител в сыворотках, полученных при иммунизации мышей ScaAB совместно с Бестимом, прирост ФИ не уступал аналогичному показателю в А и И группах, где титр сывороточных антител был выше.

### Обсуждение

Эффективная вакцина, предназначенная для вакцинации беременных женщин, инфицированных стрептококками группы В, должна стимулировать выработку способных к трансплacentарной передаче специфических антител, концентрация которых будет достаточной для предотвращения СГВ инфекции у плода и новорожденного. Предпочтительно, чтобы в этом случае содержание антител превосходило уровень, обычно достаточный для защиты других категорий взрослых лиц [13].

Удачно подобранные адьюванты, безопасные и заметно повышающие иммуногенность вакцины, смогли бы способствовать снижению эффективных доз вакцинных препаратов, а значит и степени антигенной нагрузки, что чрезвычайно важно в период созревания плода.

Успешно использованный в наших ранних экспериментах полный адьювант Фрейнда [5], несмотря на широкое применение в лабораторной практике, запрещен для использования в медицине, поскольку вызывает чрезмерную местную воспалительную реакцию. Значительный иммуностимулирующий эффект ПАФ связывают с присутствием в его составе убитых микобактерий, ответственных, вероятно, за индукцию общего высокого уровня секреции цитокинов [11, 16]. В рамках данной работы планировалось провести сравнительное исследование трех разрешенных к использованию иммуномодуляторов с целью выбора препарата для дальнейшего применения в качестве адьюванта в составе разрабатываемых вариантов рекомбинантных стрептококковых вакцин.

Несмотря на экспоненциальный рост количества адьювантов, которые изучаются в лабораториях мира, для использования на людях разрешены только единичные препараты. Это, в первую очередь, производные алюминия, история применения которых насчитывает почти 70 лет. Известно, что их иммуномодулирующий эффект связан с индукцией ответа Th2 [9]. Предполагают также, что гидрохлорид алюминия может непосредственно стимулировать антигенпрезентирующие клетки [21].

Препарат Бестим представляет собой синтетический дипептид  $\gamma\text{-D-Glu-L-Trp}$ , иммуности-

мулятор широкого спектра действия, прошедший полный цикл доклинических исследований и разрешенный для клинического применения. Показано, что при введении *in vivo* Бестим стимулировал функциональную активность макрофагов, усиливал антигенспецифическую продукцию лимфоцитами IL-2 и IFN $\gamma$ , не оказывал влияния на продукцию IL-4 [18]. Иммуностимулирующий эффект рекомбинантного Беталекина связывают с индукцией пролиферации T2-хелперов, последующей секрецией IL-4 [11].

При сравнении адъювантного эффекта было обнаружено, что только гидроокись алюминия стимулировала выработку высокоаффинных антигенспецифических иммуноглобулинов класса G на столь же высоком уровне, как и полный адъювант Фрейнда. Наименьшей активностью обладал Бестим. Эта закономерность была отмечена как при иммунизации монопрепаратами Р6 и ScaAB, так и их смесью. Антисыворотки, специфичные в отношении стрептококковых антигенов и полученные у мышей из каждой исследованной группы, обладали способностью опсонизировать СГВ Iac серотипа, что свидетельствовало о биологической эффективности иммунного ответа, стимулированного введением вакцин.

Отдельно следует отметить, что на фоне введения адъюванта Фрейнда и гидроокиси алюминия наиболее отчетливо обнаруживалась интересная закономерность. По большому счету исследуемых показателей применение смеси рекомбинантных полипептидов сопровождалось усилением иммунного ответа по сравнению с иммунизацией монопрепаратами. Это наблюдение будет учтено в дальнейшем при формировании эффективных комбинаций компонентов вакцинных препаратов.

Хорошо выраженные иммуномодулирующие свойства алюминия связаны, в первую очередь, со стимуляцией выработки антител. Недостатком этого адъюванта является слабое влияние на клеточноопосредованное звено иммунного ответа [10, 15]. Однако клеточная цитотоксичность, важнейший механизм защиты при вирусных заболеваниях, не имеет решающего значения при бактериальных инфекциях, где ведущим механизмом становится опосредованный специфическими антителами фагоцитоз.

Полученные нами сравнительные данные об умеренных адъювантных свойствах Беталекина (Интерлейкин-1 $\beta$ ) совпадают с данными Sagar и др., который [17] показал, что адъювантный эффект IL-1 $\beta$  в отношении овальбумина был наименьшим по сравнению с полным адъювантом Фрейнда и гидроокисью алюминия. В то же время, установлено выраженное стимулирующее действие рекомбинантного IL-1 $\beta$  на иммуногенную активность вакцины против

бешенства, в частности, на формирование вируснейтрализующих антител [2], а также положительное влияние на эффективность вакцинации иммунодефицитных больных при введении вакцины против вируса гепатита [1]. Слабый адъювантный эффект Беталекина может объясняться особенностями использованной нами экспериментальной модели. Показано, что IL-1 $\beta$  доминирует у человека, а у мышей он преимущественно существует в форме IL-1 $\alpha$ . Проблема применения цитокинов в качестве адъювантов требует особенно тщательного изучения. Влияние любого цитокина на характер иммунного ответа зависит от огромного количества клеточных феноменов, включая синтез и доступность других цитокинов, спектр которых может зависеть, в том числе, и от свойств использованного антигена [14].

Исследования адъювантных свойства Бестима были предприняты в связи с данными о повышении эффективности вакцинации против вируса гепатита В на фоне введения Бестима [1].

В условиях проведенного эксперимента не было отмечено какого-либо существенного влияния Бестима на гуморальное звено иммунного ответа при вакцинации мышей полипептидами ScaAB и Р6 или их смесью. На основании полученных данных можно предположить, что механизм действия Бестима не связан с прямой стимуляцией процесса антителогенеза.

В отличие от использованной нами экспериментальной модели вакцинации интактных животных клинические исследования Бестима проводились на больных со вторичным иммунодефицитным состоянием. Стимулирующий эффект Бестима в отношении результата вакцинации против гепатита В был вероятнее всего опосредован его свойствами иммунорегулятора, способного корректировать иммунопатологические процессы [1, 18].

Наряду с беременными женщинами адресной группой разрабатываемых нами стрептококковых вакцин, являются люди пожилого возраста с выраженными иммунодефицитами. В связи с этим сохраняет свою актуальность дальнейшее изучение адъювантных свойств Бестима в условиях его использования в сочетании с прямыми стимуляторами процесса специфического антителогенеза.

Подводя итоги вышесказанному, можно заключить, что разрешенная для применения в клинической практике гидроокись алюминия, использованная в качестве адъюванта в составе вакцины на основе рекомбинантных полипептидов Р6 и ScaAB, обеспечивала необходимую эффективную стимуляцию синтеза специфических антител, обладающих опсонизирующей активностью в отношении СГВ. Данное обстоятельство позволяет рассматривать этот препарат в каче-

стве перспективного адьюванта для создания рекомбинантной вакцины против стрептококков группы В.

Исследования были поддержаны грантами РФФИ 06-04-48949-а и 06-04-08026-офи.

## Список литературы

1. Абрамова Н.Н., Симбирцев А.С., Долгушин И.И. Влияние Бестима и Беталейкина на иммунный статус больных с вторичными иммунодефицитными состояниями при вакцинации против вирусного гепатита В // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 4. — С. 29-35.
2. Авдеева Ж.И., Акользина С.Е., Алпатова Н.А., Мовсесянц А.А., Медуницын Н.В. Действие цитокинов на протективные свойства антирабической вакцины // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 6, № 2. — С. 46-50.
3. Агафонова И.И. Особенности математического описания экспериментальных данных при анализе распределения сывороточных IgG, специфичных в отношении вируса гриппа // Вестн. АМН СССР. — 1991. — № 11. — С. 11-14.
4. Леонтьева Г.Ф., Суворов А.Н., Мерингова Л.Ф., Грабовская К.Б., Устинович И.А., Тотолян А.А. Экспериментальная оценка рекомбинантных полипептидов как вакцины против стрептококков группы В // Журн. микробиол. — 2005. — № 2. — С. 35-40.
5. Мерингова Л.Ф., Леонтьева Г.Ф., Устинович И.А., Грабовская К.Б., Суворов А.Н., Тотолян А.А. Сравнительное изучение антигенных и иммуногенных свойств рекомбинантных полипептидов-фрагментов белка Вас стрептококка группы В // Медицинская иммунология. — 2004. — С. 493-498.
6. Пигарева Н.В., Симбирцев А.С., Колобов А.А., Калинина Н.М., Кауров О.А., Кетлинский С.А. Изучение иммуномодулирующей активности нового пептидного соединения бестима // Иммунология. — 2000. — № 1. — С. 33-35.
7. Симбирцев А.С., Пигарева Н.В., Конусова В.Г., Калинина Н.М., Сорокин Е.М., Кетлинский С.А. Изучение биологической активности рекомбинантного интерлейкина-1b человека при введении in vivo // Вестн. РАМН. — 1993. — № 2. — С. 18-22.
8. Суворов А.Н., Грабовская К.Б., Леонтьева Г.Ф., Мерингова Л.Ф., Воробьева Е.И., Тотолян А.А. Рекомбинантные вакцины против стрептококков группы В как средство патогенетической профилактики // Мед. Академический журн. — 2006. — С. 13-18.
9. Brewer J.M., Conacher M., Hunter C.A., Mohrs M., Brombacher F., Alexander J. Aluminium hydroxide adjuvant initiates strong antigen-specific Th2 responses in the absence of IL-4 or IL-13 mediated signaling // J. Immunol. — 1999. — N 163. — P. 6448-6454.
10. Gupta R.K., Siber G.R. Adjuvants for human vaccines-current status, problems and future prospects // Vaccine. — 1995. — N 13. — P. 1263-1276.
11. Dalai S.K., Miriyala B., Kar S.K. Interleukin-1 $\beta$  partially alleviates cyclosporine A-induced suppression of IgG1 isotype response to thyroglobulin in Balb/c mice in vivo // Immunology. — 1999. — Vol. 95. — N 8. — P. 83-89.
12. Lefkowitz S.S., Brown D.J., Grattendick K., Lefkowitz D.L. Cocaine inhibits production of murine hepatitis virus by peritoneal macrophages in vitro // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1997. — Vol. 215. — P. 87-93.
13. Martin D., Rioux S., Gagnon E., Boyer M., Hamel J., Charland N., Brodeur BR. Protection from Group B Streptococcal Infection in Neonatal Mice by Maternal Immunization with Recombinant Sip Protein // Infect. Immun. — 2002. — Vol. 70, N 9. — P. 4897-4901.
14. Ogra P.L., Faden H., Welliver R.C. Vaccination strategies for mucosal immune responses // Clin. Microbiol. Rev. — 2001. — P. 430-445.
15. Paoletti L.C., Rensch M.A., Kasper D.L., Moline D., Ambrosino D., Baker C.J. Effects of Alum Adjuvant or a Booster Dose on Immunogenicity during Clinical Trials of Group B Streptococcal Type III Conjugate Vaccines // Infect. Immun. — 2001. — Vol. 69, N 11. — P. 6696-6701.
16. Petrovsky N., Aguilar J.C. Vaccine adjuvants: current state and future trends // Immunol. Cell. Biol. — 2004. — Vol. 4. — P. 88-96.
17. Sagara T., Mori S., Ohkawara S., Goto F., Takagi K., Yoshinaga M. A limited role of IL-1 in immune-enhancement by adjuvants // Immunology. — 1990. — Vol. 71. — P. 251-257.
18. Simbirtsev A., Kolobov A., Zabolotnych N., Pigareva N., Konusova V., Kotov A., Variouchina E., Bokovanov V., Vinogradova T., Vasilieva S., Tuthill C. Biological Activity of Peptide SCV-07 Against Murine Tuberculosis // Russ. J. Immunol. — 2003. — Vol. 8, N 1. — P. 11-22.
19. Schchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms // Clin. Microbiol. Rev. — 1998. — Vol. 11. — P. 497-513.
20. Suvorov A., Ustinovich I., Meringova L., Grabovskaya K., Leontieva G., Vorobieva E., Totoлян A. Construction of recombinant polipeptides based on beta antigen C (Bac) protein and their usage for protection against group B streptococcal infection // Indian J. Med. Res. — 2004. — Vol. 119. — P. 228-232.
21. Ulanova M., Tarkowski A., Hahn-Zoric M., Hanson L.A. The common vaccine adjuvant aluminium hydroxide up-regulates accessory properties

of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism // Inf. Immun. – 2001. – Vol. 69, N 2. – P. 1151-1159.

22. Vorobieva E., Meringova L., Leontieva G., Grabovskaya K., Suvorov A. Analysis of recombinant group B streptococcal protein ScaAB and evaluation

of its immunogenicity // Folia Microbiol. – 2005. – N 50. – P. 172-176.

*поступила в редакцию 09.01.2008*

*отправлена на доработку 15.01.2008*

*принята к печати 22.01.2008*