

П.Н.Дерябин<sup>1</sup>, Б.В.Каральник<sup>2</sup>, Т.Г.Денисова<sup>2</sup>, Т.С.Пономарева<sup>1</sup>, Б.Б.Атшабар<sup>1</sup>, Г.Б.Жунусова<sup>2</sup>,  
Т.И.Тугамбаев<sup>1</sup>, А.А.Туружанова<sup>2</sup>, С.Б.Закарян<sup>1</sup>, З.Т.Алымкулова<sup>1</sup>

## РАЗРАБОТКА РЕАГЕНТА ДЛЯ ОЦЕНКИ НАЧАЛЬНОЙ СТАДИИ ИММУННОГО ОТВЕТА НА ЖИВУЮ ЧУМНУЮ ВАКЦИНУ

<sup>1</sup>Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций имени М.Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан;

<sup>2</sup>Научный центр гигиены и эпидемиологии имени Х.Жуматова, Алматы, Республика Казахстан

**Цель работы.** Разработка реагента для выявления лимфоцитов с рецепторами (ЛФР) к F1 антигену *Yersinia pestis*. **Материалы и методы.** В работе использована живая чумная вакцина на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, инактивированные формалином взвеси микроорганизмов – *Y. pestis*, 3123, *Y. enterocolitica* серовара O9 H-383, *Y. pseudotuberculosis* серовара O1 2841; капсульный антиген *Y. pestis* F1, полученный по методу Baker; липополисахарид *Y. pestis* K1, фиксированные ацетальдегидом эритроциты быка. Сенсибилизацию эритроцитов быка F1 проводили при помощи риванола. Лимфоциты из крови выделяли в градиенте плотности фиколл-верографин 1.077. ЛФР определяли методом адгезии реагента на выделенных лимфоцитах. В контроле использовали эритроциты, не нагруженные F1. После экспозиции выполняли по 7 определений ЛФР специфичности F1 и лимфоцитов, связавших контрольный реагент. В работе использовано 8 кроликов, иммунизированных живой вакциной EV, и 2 кролика, иммунизированных инактивированной вакциной EV. Обследовано 5 людей, иммунизированных вакциной EV. **Результаты и выводы.** Определена оптимальная сенсибилизирующая доза антигена F1 (250 мкг/мл). В опытах ингибиции гомологичным и гетерологичными антигенами показана специфичность выявления лимфоцитов с рецепторами к F1. ЛФР к F1 обнаружены в периферической крови всех кроликов и людей, иммунизированных вакциной EV. У кроликов ЛФР выявлены со 2-х по 35-е сутки, у людей – со 2-х по 14-е сутки после вакцинации. Показано, что при повторной вакцинации людей ЛФР появлялись и исчезали раньше, чем при первичной вакцинации.

**Ключевые слова:** живая чумная вакцина EV, лимфоциты с рецепторами к антигену F1, вакцинация людей и кроликов

Корреспондирующий автор: Дерябин Павел Николаевич, e-mail: pderyabin@gmail.com.

P.N.Deryabin<sup>1</sup>, B.V.Karal'nik<sup>2</sup>, T.G.Denisova<sup>2</sup>, T.S.Ponomareva<sup>1</sup>, B.B.Atshabar<sup>1</sup>, G.B.Zhunosova<sup>2</sup>,  
T.I.Tugambaev<sup>1</sup>, A.A.Turuzhanova<sup>2</sup>, S.B.Zakaryan<sup>1</sup>, Z.T.Alymkulova<sup>1</sup>

## Development of a Reagent for Evaluation of Incipient Immune Response to the Live Plague Vaccine

<sup>1</sup>M.Aikimbaev Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Infections, Almaty, Republic of Kazakhstan; <sup>2</sup>Kh.Zhumatov Scientific Center of Hygiene and Epidemiology, Almaty, Republic of Kazakhstan

**Objective** of the study is to develop a reagent for the detection of lymphocytes with *Yersinia pestis* F1 antigen receptors. **Materials and methods.** Utilized have been: live plague vaccine based on the strain of *Yersinia pestis* EV NIEG, formalin killed suspensions of microorganisms – *Y. pestis*, 3123, *Y. enterocolitica* O9 H-383 serovar, *Y. pseudotuberculosis* O1 2841 serovar; acetaldehyde-immobilized capsular antigen of *Y. pestis* F1 (obtained applying Baker methodology), lipopolysaccharide of *Y. pestis* K1, and bovine erythrocytes. Bovine erythrocyte F1 sensitization has been performed using rivanol. Lymphocytes from blood have been isolated in density gradient ficoll-verografin 1.077. Lymphocytes with *Yersinia pestis* F1 antigen receptors have been detected by means of reagent adhesion onto the isolated lymphocytes. F1-free erythrocytes serve as controls. After the exposition, 7 evaluations of specificity to F1 and the lymphocytes, binding control reagent, have been carried out. Deployed have been 8 rabbits, immunized with live vaccine EV, and 2 rabbits, immunized with inactivated vaccine EV. Examined have been EV-vaccinated 5 persons. **Results and conclusions.** Identified is optimum sensiblizing dose of F1 antigen (250 µg/ml). Specificity of lymphocytes with receptors to F1 is demonstrated in inhibition experiments applying homologous and heterogeneous antigens. Lymphocytes with receptors to F1 (LRs) have been detected in peripheral blood of all rabbits and humans, immunized with vaccine EV. LR have been registered since day 2 till day 35 in the rabbits, and in humans – since day 2 till day 14 after vaccination. It is shown that in case of revaccination of humans, LR emerge and disappear earlier, than in case of primary immunization.

**Key words:** live plague vaccine EV, lymphocytes with receptors to F1 antigens, immunization of humans and rabbits.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Corresponding author:** Pavel N. Deryabin, e-mail: pderyabin@gmail.com.

**Citation:** Deryabin P.N., Karal'nik B.V., Denisova T.G., Ponomareva T.S., Atshabar B.B., Zhunosova G.B., Tugambaev T.I., Turuzhanova A.A., Zakaryan S.B., Alymkulova Z.T. Development of a Reagent for Evaluation of Incipient Immune Response to the Live Plague Vaccine. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:102–106. (In Russ.). DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-102-106

Для специфической иммунопрофилактики чумы в странах СНГ, в том числе в Казахстане, используется живая чумная вакцина на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ (ЖЧВ) [4, 5]. Адаптивный (антиген специфический) иммунный ответ на вакцинацию включает два периода свое-

го развития: «начальный» и «эффекторный» [1]. Начало антигенспецифического иммунного ответа при вакцинации характеризуется формированием лимфоцитов, имеющих рецепторы к антигену возбудителя (ЛФР) [1]. Этот период иммунного ответа на ЖЧВ практически не изучен. Наиболее часто такие

лимфоциты выявляют адгезивным тестом – связыванием лимфоцитами инертного носителя с сорбированным антигеном возбудителя/иммуногена [1]. Адгезивный тест оценки содержания ЛфР успешно использован при различных инфекционных заболеваниях и при иммунизации людей и животных различными вакцинами [2].

Цель настоящего исследования – разработка реagenta для оценки содержания ЛфР к F1 у людей и животных, вакцинированных ЖЧВ.

### Материалы и методы

Использовали штаммы микроорганизмов *Yersinia pestis*, EV, *Y. pestis* 3123, *Y. pestis* K1, *Y. enterocolitica* серовара O9 H-383, *Y. pseudotuberculosis* серовара O1 2841, полученные из Республиканской коллекции и депозитария особо опасных микроорганизмов с музеем живых культур Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М.Айкимбаева (КНЦКЗИ), а также живую чумную вакцину, полученную на основе штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ (производства КНЦКЗИ).

Капсульный антиген *Y. pestis* F1 получали по методу Е.Е.Вакер [8] с использованием *Y. pestis* штамма K1, выращенного при 37 °С в течение 48–72 ч на агаре Хоттингера с добавлением 1 % хлористого кальция и 0,5 % гемолизированной крови. Получение использованного капсульного антигена F1 регламентировано Стандартом предприятия (КНЦКЗИ) – СТ 24340-1910-ГП-25-2011. Активность F1 антигена проверяли в РНГА с диагностикумом эритроцитарным чумным иммуноглобулиновым производства КНЦКЗИ. Чистоту полученного антигена определяли с использованием «Western blot» со стандартной анти-F1-сывороткой (сыворотка чумная агглютинирующая лошадиная производства «Микроб», Саратов, РФ). Полученный антиген представляет собой белок с молекулярным весом 17000 Da, с возможным присутствием незначительных количеств белков с молекулярным весом 34000 и 68000 Da.

В качестве сорбента, связывающего F1, применили фиксированные ацетальдегидом эритроциты быка, спонтанно не связывающиеся с лимфоцитами человека, кролика и морских свинок [3]. Сенсибилизацию эритроцитов F1 осуществляли при помощи риванола [7]. Выделение лимфоцитов из крови проводили в градиенте плотности фиколл-верографин 1,077.

ЛфР определяли методом адгезии реagenta на выделенных лимфоцитах при соотношении  $1,2 \cdot 10^8$  корпускул реagenta на  $2 \cdot 10^6$  лимфоцитов. В контроле вместо реагентов специфичности F1 использовали те же эритроциты, не нагруженные F1. После экспозиции выполняли по 7 повторов определений ЛфР специфичности F1 и лимфоцитов, связавших контрольный реagent. Рецепторы к F1 у лимфоцита считали выявленными, если он связывал не менее 3 корпускул реagenta. При этом ЛфР в пробе лимфо-

цитов считали выявленными, если их содержание, определенное с тем или иным опытным реagentом, достоверно ( $P \leq 0,05$ ) превышало содержание в той же пробе лимфоцитов, связавших контрольный реagent. По этим данным определяли среднее содержание ЛфР в биопробе лимфоцитов. На протяжении всего опыта использовали одну и ту же серию каждого реagenta. Содержание ЛфР и лимфоцитов, связавших контрольный реagent, в суспензии лимфоцитов выражали в процентах. Учет реакции проводили визуальным методом с использованием светового микроскопа «Zeiss» со встроенной подсветкой с иммерсионной системой, при увеличении в 1000 раз (окуляр –  $\times 10$ , объектив –  $\times 100$ ).

Специфичность разработанного реagenta оценивали по ингибции его связывания с лимфоцитами гомо- и гетерологичными антигенами по следующей схеме: в пробирку, содержащую 20 мкл исследуемой взвеси лимфоцитов в концентрации  $4 \cdot 10^6$  м.к./мл, добавляли равный объем ингибирующего антигена (в контроле – 0,85 % раствор NaCl). Смесь выдерживали 30 мин при 37 °С. После этого в пробирку вносили F1 реagent и определяли содержание ЛфР, как описано выше. В качестве гомологичного антигена использовали убитую формалином взвесь *Y. pestis* штамма EV, содержащую  $2 \cdot 10^9$  м.к./мл, в качестве гетерологичных – аналогично приготовленные взвеси штаммов: дефектного по F1 антигену штамма *Y. pestis* 3123, штаммов *Y. enterocolitica* серовара O9 H-383, *Y. pseudotuberculosis* O1 2841, а также липополисахарид (ЛПС) *Y. pestis* штамма K1.

В работе использованы 10 взрослых самцов кроликов массой 2–2,5 кг. 8 кроликов были иммунизированы внутривенным введением ЖЧВ ( $3 \cdot 10^8$  м.к.) в 0,5 мл 0,85 % раствора натрия хлорида и 2 кролика – инактивированной формальдегидом этой же вакциной в той же концентрации. Кровь для исследования была взята из краевой вены уха в пробирку с гепарином (~4 мл). Лимфоциты, выделенные у двух кроликов на 15-е сутки после вакцинации, использовали в опытах по определению оптимальной сенсибилизирующей дозы антигена.

Лимфоциты от 2 кроликов, иммунизированных ЖЧВ, и 2 кроликов, иммунизированных инактивированной формальдегидом вакциной, выделенные на 4-е и 7-е сутки после вакцинации, использовали в опытах по изучению специфичности ЛфР.

Динамику ЛфР изучали на 4 кроликах и 5 здоровых взрослых людях, иммунизированных ЖЧВ. Содержание ЛфР у каждого кролика определяли до и через 2, 4, 7, 14, 21, 28, 35 и 42 сут после иммунизации. Работа с животными проводилась с учетом «Правил проведения работ с экспериментальными животными». Протоколы проведения опытов (№ 6–8) были рассмотрены и одобрены на заседании биоэтической комиссии КНЦКЗИ.

Вакцинацию людей проводили в соответствии с утвержденной инструкцией по применению ЖЧВ, скарификацией. 1 доза вакцины содержала  $3 \cdot 10^9$  м.к.

Оценка специфичности лимфоцитов с рецепторами к F1

Иммунизация вакциной EV	Сроки исследования**	Содержание ЛфР, %***	Степень ингибции (в %) при использовании***				
			<i>Y. pestis</i> EV	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. pestis</i> 3123	ЛПС <i>Y. pestis</i>
Живая	4	3,21±0,15	23,6±3,6	7,1±4,9	5,4±5,2	5,2±4,5	6,5±5,0
	7	5,29±0,16	36,6±1,8	-3,2±2,2	-2,0±2,6	*7,6±2,5	*7,6±2,5
Инактивированная формалином	4	2,21±0,11	85,7±5,5	5,4±2,8	4,8±3,2	-1,2±4,4	7,1±3,8
	7	3,93±0,13	61,9±3,1	8,9±5,0	8,9±3,3	3,2±2,2	1,4±1,4

\*P<0,05. \*\*Количество дней после вакцинации. \*\*\*Средняя арифметическая и ее средняя квадратическая ошибка.

*Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Кровь для исследования брали из локтевой вены до вакцинации и через 2, 6, 9, 13, 20, 27, 34, 48 и 62 сут после вакцинации. Все вакцинированные люди относились к декретируемому контингенту лиц, подлежащих вакцинации против чумы, и дали добровольное информированное согласие на использование данных их обследования в научных публикациях.

В работе применяли статистические методы частных сравнений серий. Результат считали значимым при P≤0,05.

### Результаты и обсуждение

*Выбор оптимальной сенсibilизирующей дозы.* Для выбора дозы F1, обеспечивающей оптимальную чувствительность реагентов, фиксированные эритроциты сенсibilизировали растворами, содержащими F1 в концентрациях от 3,9 до 1000,0 мкг/мл. Приготовленные экспериментальные серии реагентов тестировали на лимфоцитах кроликов, выделенных из их крови через 15 сут после иммунизации ЖЧВ. Реагенты всех 9 экспериментальных серий и одной контрольной (эритроциты, не нагруженные антигеном) тестировали параллельно с одной и той же пробой лимфоцитов, выделенных из крови каждого из двух иммунизированных кроликов. Оптимальной сенсibilизирующей дозой считали ту дозу антигена, использование которой обеспечивало способность реагента выявлять в пробе лимфоцитов иммунизированных кроликов максимальное количество ЛфР. Такой дозой оказалась концентрация антигена 250 мкг/мл. В дальнейших исследованиях при получении реагента использовали вышеуказанную дозу антигена.

*Оценка специфичности разработанного реагента.* На основании экспериментальных результатов рассчитывали степень ингибции (СИ) – относительный показатель снижения за счет экспозиции с антигеном количества ЛфР в суспензии лимфоцитов  $СИ = 100 - (исхЛфР - эксЛфР) / исхЛфР \cdot 100$ , где исхЛфР – исходное, до экспозиции с антигеном, содержание ЛфР в анализируемой пробе, эксЛфР – выявленное в пробе после экспозиции с ингибитором содержание ЛфР.

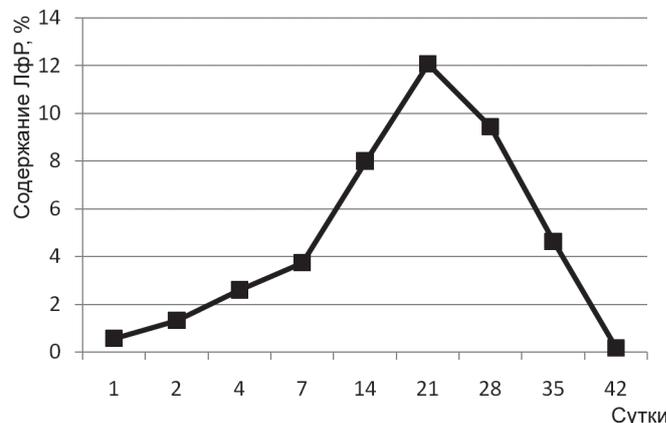
Как видно из табл. 1, при использовании гомологичного антигена (инактивированной формали-

ном взвеси *Y. pestis* EV) наблюдалось выраженное (P<0,05) снижение количества ЛфР к F1 (от 24 до 86 % от исходного уровня), причем при исследовании лимфоцитов кроликов, иммунизированных инактивированной вакциной, это снижение было относительно (P<0,05) большим, чем при исследовании лимфоцитов кроликов, иммунизированных живой вакциной. Что, по-видимому, связано с достоверно (P<0,05) более низким содержанием ЛфР к F1 при иммунизации вакциной, инактивированной формалином. Чем меньше исходное до ингибции содержание ЛфР в суспензии, тем активнее, при прочих равных условиях, ингибция выявления ЛфР. При использовании гетерологичных антигенов незначительное снижение (P<0,05) содержания ЛфР к F1 отмечено лишь в двух случаях: при использовании дефектного по F1 штамма *Y. pestis* 3123, и ЛПС *Y. pestis*. В остальных случаях достоверной ингибции образования ЛфР не было.

*Динамика содержания ЛфР у иммунизированных кроликов.* Результаты приведены на рисунке. У всех 4 кроликов ЛфР обнаруживались со вторых по 35-е сутки после иммунизации. Максимум их содержания (12,8±0,14 %) был отмечен на 21-е сутки после иммунизации, с 42 сут после иммунизации ЛфР в периферической крови уже не было.

*Динамика содержания ЛфР у вакцинированных людей (предварительные данные).*

Результаты обследования вакцинированных людей приведены в табл. 2, из которой видно, что до вакцинации ЛфР к F1 не обнаружены ни у одного из



Зависимость содержания ЛфР от срока иммунизации кроликов

Динамика лимфоцитов с рецепторами к F1 у вакцинированных людей

№ вакцинуемого	Вакцинация	Количество ЛфР к F1 и его средняя квадратическая ошибка, %					
		до вакцинации	после вакцинации через сут				
			2	6	9	13	20
1	Повторная	0,14±0,14	*6,43±0,30	*6,71±0,18	*19,0±0,31	0,14±0,14	0,29±0,18
2	Первичная	0,43±0,20	0,14±0,14	*11,71±0,29	*14,00±0,22	*2,29±0,18	0,43±0,20
3	Повторная	0,71±0,18	*18,29±0,47	*6,29±0,29	*5,86±0,14	*3,86±0,22	0,14±0,14
4	Первичная	0,29±0,18	*4,00±0,22	*13,57±0,37	*9,29±0,29	*3,29±0,18	0,14±0,14
5	Повторная	0,29±0,18	*15,29±0,18	*15,86±0,14	*9,71±0,36	*1,71±0,18	0±0

\*Содержание ЛфР к F1 достоверно (P<0,05) больше содержания лимфоцитов, связавших контрольный реагент.

5 обследованных людей, хотя трое из них были вакцинированы ранее. После вакцинации ЛфР к F1 выявлены у всех вакцинированных людей. Обнаружено различие в динамике ЛфР у людей, вакцинированных первый раз и повторно. При первичной вакцинации ЛфР на 2-е сутки после вакцинации обнаружены только у одного из вакцинированных (4,0 %), а при повторной вакцинации – у всех трех человек. Их содержание было достоверно (P<0,05) более высоким (от 6 до 18 %). Не исключено, что у ревакцинированных ЛфР появляются в периферической крови уже в первые сутки после иммунизации. Максимальное содержание ЛфР у повторно вакцинированных было значимо (P<0,05) большим (от 16 до 19 %), чем у первично вакцинированных (от 9 до 14 %). У двух из трех людей, вакцинированных вторично, и обоих лиц, вакцинированных первично, ЛфР обнаруживались до 13 сут после вакцинации. При этом содержание ЛфР у первично вакцинированных людей было больше, чем у повторно вакцинированных. На 20-е и в последующие сутки после вакцинации ЛфР в периферической крови не определялись.

Для получения реагента, обеспечивающего выявление ЛфР, характеризующих начальную стадию иммунного ответа, был выбран капсульный антиген F1 *Y. pestis*. Этот антиген присутствует в большинстве вакцин для профилактики чумы, в составе микробных клеток или в виде рекомбинантного белка [6, 9, 10]. Следовательно, данный реагент можно будет использовать для оценки начальной стадии поствакцинального ответа не только при использовании ЖЧВ. Исследования по ингибции взаимодействия разработанного реагента с лимфоцитами показали его высокую специфичность по отношению к использованному антигену (F1). Лишь в двух случаях из двадцати (табл. 1) была выявлена небольшая ингибция гетерологичными препаратами: взвесью дефектного по F1 штамма *Y. pestis* и ЛПС *Y. pestis*. Очевидно, что в этих двух продуктах сохраняются следовые количества F1. Принципиально важно, что степень ингибции гомологичным антигеном взаимодействия ЛфР с разработанным реагентом всегда существенно более высокая, чем гетерологичными.

Изучение динамики ЛфР у кроликов и людей, вакцинированных ЖЧВ, показало, что ЛфР к F1 в

периферической крови появляются очень рано, особенно при повторной вакцинации, уже на 2-е сутки после вакцинации. Эти данные соответствуют срокам выявления ЛфР на других моделях вакцинации и при различных заболеваниях [2]. При обследовании вакцинированных людей отмечено различие в динамике и содержании ЛфР при первичной и повторной вакцинации. Хотя, учитывая малочисленность обследованных групп, исследование будет продолжено. Применение разработанного реагента позволит в дальнейшем изучить влияние начального периода на эффекторный период адаптивного иммунного ответа на ЖЧВ и ее протективную активность.

Таким образом, разработан реагент для определения лимфоцитов с рецепторами к капсульному антигену F1 *Yersinia pestis*. Применение разработанного реагента в реакции адгезии позволяет определять такие лимфоциты после иммунизации живой и инактивированной чумной вакциной. В опытах ингибции гомологичным и рядом гетерологичных антигенов показана специфичность выявления лимфоцитов с рецепторами к F1 реагенту. У вакцинированных живой чумной вакциной кроликов и людей ЛфР к F1 обнаружены в периферической крови уже на 2-е сутки после иммунизации.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каральник Б.В., Денисова Т.Г. Иммуномодуляция как путь изучения иммунорегуляторных функций антигенсвязывающих лимфоцитов. *Аллергол. и иммунол.* 2011; 12(1):54–5.
2. Каральник Б.В., Дерябин П.Н., Денисова Т.Г., Жунусова Г.Б., Березин В.Е. Антигенсвязывающие лимфоциты в динамике иммунного ответа на бактериальные, вирусные и аутоантигены. *Известия Министерства образования и науки Республики Казахстан, Национальной Академии наук Республики Казахстан. Сер. биологическая и медицинская.* 2001; 5:37–43.
3. Каральник Б.В., Лещинская Л.Ц. Способ определения е-розеткообразующих клеток. А.с. 862919 СССР, опубл. 15.09.1981, Бюл. 34. 30 с.
4. Коробкова Е.И. Живая противочумная вакцина. М.: Медгиз; 1956. 207 с.
5. Кутырев В.В., Девдариани З.Л., Саяпина Л.В. Современное состояние научных исследований в области вакцинопрофилактики особо опасных бактериальных инфекций. *Пробл. особо опасных инф.* 2006; 2(92):18–24.
6. Микшис Н.И., Кудрявцева О.М., Кутырев В.В. Современные тенденции в конструировании рекомбинантных вакцин для специфической профилактики чумы. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2015; 3:116–26.

7. Шамардин В.А., Каральник Б.В. Сенсибилизация эритроцитов иммуноглобулинами. Методические рекомендации Алма-Ата; 1981. 12 с.

8. Baker E.E., Sommer H., Foster L.E., Meyer E., Meyer K.F. Studies on immunization against plague. The isolation and characterization of the soluble antigen of *Pasteurella pestis*. *J. Immunol.* 1952; 68(2):131–45.

9. Feodorova V.A., Motin V.L. Plague vaccines. In: Vaccines against bacterial biothreat pathogens. India; 2011. P. 175–233.

10. Williamson E., Flick-Smith Y., LeButt C. Human immune response to a plague vaccine comprising recombinant F1 and rV antigens. *Infect. Immun.* 2005; 73:3598–3608. DOI: 10.1128/IAI.73.6.3598-3608.2005.

#### References

1. Karal'nik B.V., Denisova T.G. [Immune-modulation as a means to investigate immune-regulatory functions of antigen-binding lymphocytes]. *Allergol. Immunol.* 2011; 12(1):54–5.

2. Karal'nik B.V., Deryabin P.N., Denisova T.G., Zhunusova G.B., Berezin V.E. [Antigen-binding lymphocytes in the dynamics of immune response to bacterial, viral and auto-immune antigens]. *Bulletin of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Biological and medical Series.* 2001; 5:37–43.

3. Karal'nik B.V., Leshchinskaya L.Ts. [Method of e-rosette forming cells detection]. A.c. 862919 USSR, 15.09.1981. 30 p.

4. Korobkova E.I. [Live Plague Vaccine]. M.: Medgiz; 1956. 207 p.

5. Kutyrev V.V., Devdariani Z.L., Sayapina L.V. [Present status of the researches in the sphere of vaccine prophylaxis of particularly dangerous bacterial infections]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 2(92):18–24.

6. Mikshis N.I., Kudryavtseva O.M., Kutyrev V.V. [Current trends in development of recombinant vaccines for specific prophylaxis of plague]. *Zh.*

*Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2015; 3:116–26.

7. Shamardin V.A., Karal'nik B.V. [Sensibilization of erythrocytes with the help of immunoglobulins]. Methodological recommendations. Alma-Ata; 1981. 12 p.

8. Baker E.E., Sommer H., Foster L.E., Meyer E., Meyer K.F. Studies on immunization against plague. The isolation and characterization of the soluble antigen of *Pasteurella pestis*. *J. Immunol.* 1952; 68(2):131–45.

9. Feodorova V.A., Motin V.L. Plague vaccines. In: Vaccines against bacterial biothreat pathogens. India; 2011. P. 175–233.

10. Williamson E., Flick-Smith Y., LeButt C. Human immune response to a plague vaccine comprising recombinant F1 and rV antigens. *Infect. Immun.* 2005; 73:3598–3608. DOI: 10.1128/IAI.73.6.3598-3608.2005.

#### Authors:

Deryabin P.N., Ponomareva T.S., Atshabar B.B., Tugambaev T.I., Zakaryan S.B., Alymkulova Z.T. M.Aikimbaev Kazakh Scientific Center of Quarantine and Zoonotic Infections. 14, Kupalskaya St., Almaty, 050054, Republic of Kazakhstan. E-mail: pderyabin@gmail.com.

Karal'nik B.V., Denisova T.G., Zhunusova G.B., Turuzhanova A.A. Kh.Zhumatov Scientific Center of Hygiene and Epidemiology. Almaty, Republic of Kazakhstan.

#### Об авторах:

Дерябин П.Н., Пономарева Т.С., Атишбар Б.Б., Тугамбаев Т.И., Закарян С.Б., Алымкулова З.Т. Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций имени М.Айкимбаева. Республика Казахстан, 050054, Алматы, ул. Капальская, 14. E-mail: pderyabin@gmail.com.

Каральник Б.В., Денисова Т.Г., Жунусова Г.Б., Туружанова А.А. Научный центр гигиены и эпидемиологии имени Х.Жуматова. Республика Казахстан, Алматы.

Поступила 15.12.15.