

Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия

С. А. Бугоркова¹ (rusrapi@microbe.ru), Т. Н. Шуковская¹, Н. И. Микшис¹, С. Н. Ключева¹, О. М. Кудрявцева¹, А. Л. Кравцов¹, А. Ю. Гончарова¹, В. А. Кожевников¹, Д. Н. Санджиев², С. В. Конушева², С. П. Савченко², Е. С. Бембеева³, С. А. Щербакова¹, В. В. Кутырев¹

DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

²Управление Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, Элиста

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия», Элиста

Резюме

Актуальность. Международными медико-санитарными правилами 2005 г. чума входит в перечень опасных инфекционных болезней, способных вызывать чрезвычайные ситуации межгосударственного значения. Даже единичные случаи заболевания чумой человека рассматриваются как основание для проведения профилактических мероприятий.

В работе представлены результаты иммунологического мониторинга, проведенного на территории Республики Калмыкия с целью оценки иммунологической эффективности и безопасности вакцины чумной живой.

Материалы и методы. Исследования по изучению иммунологической эффективности вакцины чумной живой проводили с поэтапной оценкой активности клеточного и гуморального звеньев системы врожденного и адаптивного иммунитета у лиц, ревакцинированных против чумы с использованием комплекса современных информативных тестов.

Результаты и выводы. Установлено, что перед второй ревакцинацией у всех обследованных лиц сохранялся выраженный иммунный ответ по смешанному или клеточному типу, характеризующийся высоким уровнем спонтанной и индуцированной продукции Th1-ассоциированных цитокинов. Регистрировали активацию Th1 иммунного ответа через 1 месяц после очередной ревакцинации, переключение иммунного ответа с Th1- на Th2-тип спустя 6 месяцев наблюдения и сохранение адаптивного иммунитета по смешанному типу на умеренном уровне через год. Развитие специфического гуморального иммунитета отмечали у 85% обследованных лиц, но на протяжении всего исследования динамика титров антител к F1 чумного микроба была индивидуальна и не коррелировала с показателями клеточного иммунитета. Проведенное комплексное исследование подтвердило относительную безопасность вакцины чумной живой.

Ключевые слова: иммунологический мониторинг, живая чумная вакцина, иммунологическая эффективность

Для цитирования: Бугоркова С. А., Шуковская Т. Н., Микшис Н. И. и др. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2018; 17 (3): 38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50

Comprehensive Immunological Study of Persons Vaccinated with Live Plague Vaccine Living on the Territory of the Pre-Caspian Sand Foci of the Plague in the Republic of Kalmykia

S. A. Bugorkova¹ (varusrapi@microbe.ru), T. N. Shchukovskaya¹, N. I. Mikishis¹, S. N. Klyueva¹, O. M. Kudryavtseva¹, A. L. Kravtsov¹, A. Yu. Goncharova¹, V. A. Kozhevnikov¹, D. N. Sandzhiev², S. V. Konusheva², S. P. Savchenko², E. S. Bembeeva³, S. A. Shcherbakova¹, V. V. Kutyrev¹

¹Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Saratov

²Department of Rosпотребнадзор in the Republic of Kalmykia, Elista

³Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Kalmykia, Elista

Abstract

Relevance. In 2005 International Health Regulations, the plague, is on the list of dangerous infectious diseases that can cause emergency situations of interstate importance. Even single cases of human plague are considered as the basis for carrying out preventive measures.

The paper presents the results of immunological monitoring conducted on the territory of the Republic of Kalmykia in order to assess the immunological efficacy and safety of the plague live vaccine. The paper presents the results of immunological monitoring in the territory of the Kalmyk Republic over the individuals vaccinated against plague due to epidemiological reasons.

Materials and methods. Studies of immunological efficacy of live plague vaccine were conducted alongside stepwise assessment of cellular and humoral components of innate and adaptive immunity in persons revaccinated against plague, using a complex of advanced informative tests.

Results and conclusions. It is established that before the second revaccination all the surveyed persons retained expressed immune response by the mixed or cellular type, characterized by high level of spontaneous and induced production of Th1-associated cytokines. Activation of Th1 immune reaction was registered one month after the scheduled revaccination; immune response change-over from Th1 to Th2 type – after 6 months of observation, and retention of adaptive immunity by mixed type at the moderate level – in a year. Specific humoral immunity developed in 85% of the surveyed persons, but throughout the whole investigation the dynamics of antibody titers to plague microbe F1 individualized and did not coincide with cellular immunity indicators. Performed complex study has confirmed the relative safety of the live plague vaccine.

Key words: immunological monitoring, live plague vaccine, immunological efficacy.

For citation: Bugorkova S. A., Shchukovskaya T. N., Mikishis N. I. et al. Comprehensive Immunological Study of Persons Vaccinated with Live Plague Vaccine Living on the Territory of the Pre-Caspian Sand Foci of the Plague in the Republic of Kalmykia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018; 17 (3): 38–50. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50 (in Russian)

Введение

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы общей площадью более 221 тыс. км². В течение последних нескольких лет в ряде очагов регистрируют обострение эпизоотической обстановки. Так в 2014–2016 гг. напряженная ситуация была в Прикаспийском песчаном очаге чумы [1, 2]. В этот же период на фоне эпизоотии в Горно-Алтайском высокогорном очаге имели место случаи заражения чумой человека [3, 4]. Не исключена угроза риска попадания возбудителя чумы в Российскую Федерацию с территорий трансграничных природных очагов инфекции. В соответствии с Международными медико-санитарными правилами 2005 г. чума входит в перечень опасных инфекционных болезней, способных вызывать чрезвычайные ситуации международного значения. Даже единичные случаи заболевания чумой человека рассматриваются как основание для проведения профилактических мероприятий.

В комплексе мер по обеспечению эпидемиологического надзора и профилактики чумы важное место отведено специфической профилактике [5]. В случае обострения эпидемиологической ситуации вакцинация людей против чумы проводится в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям [6].

В настоящее время на территории Российской Федерации используется вакцина чумная живая (ВЧЖ) на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ (производитель – ФКУЗ «Ставропольский НИПЧИ» Роспотребнадзора). Вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ характеризует делеция протяженностью 102 т.п.н. в *pgm*-области хромосомы. Расшифровка генома подтвердила отсутствие фрагмента хромосомы, включающего кластер генов, кодирующих биосинтез и транспорт сидерофора иерсиниабактина, и *hms*-локуса, ответственного за сорбцию гемина [7]. Наличие протяженной делеции подтверждает авирулентность штамма и исключает возможность спонтанной реверсии

к ассоциированному с патогенностью *Pgm*⁺ фенотипу. После снятия с производства инактивированной чумной вакцины USP (США) ВЧЖ остается единственным лицензированным препаратом для специфической профилактики чумы. Вакцина вызывает развитие иммунитета к чуме длительностью до одного года. Плановым прививкам подлежат дети с 2 лет и взрослые, проживающие на энзоотических по чуме территориях, а также лица, работающие с живыми культурами возбудителя чумы. Вакцинацию проводят однократно с последующими ежегодными ревакцинациями в той же дозе.

Исторический опыт применения ВЧЖ свидетельствует, что вакцинация снижает заболеваемость чумой и обуславливает более легкое течение болезни, преимущественно в виде бубонной чумы, реже осложняется вторичной легочной пневмонией [8, 9]. Вместе с тем остаются вопросы относительно продолжительности защиты после вакцинации, безопасности и целесообразности проведения многократной вакцинации, масштабах этого мероприятия в зависимости от конкретных эпидемиологических обстоятельств. На решение этих вопросов направлен иммунологический мониторинг за лицами, вакцинированными против чумы по эпидемическим показаниям. Однако на фоне многолетней благоприятной эпидемиологической обстановки по чуме в России массовые исследования иммунного статуса вакцинированных ВЧЖ проводились эпизодически. Немногочисленные опубликованные данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета при применении ВЧЖ не дают исчерпывающего ответа относительно выраженности защитных клеточных реакций организма в различные сроки после вакцинации (ревакцинации) [10–13].

Одной из задач совершенствования эпидемиологического надзора за чумой является осуществление объективной оценки специфического поствакцинального иммунитета у лиц, вакцинированных по эпидемическим показаниям. В настоящее время есть немало возможностей по ряду

косвенных показателей изменения иммунореактивности организма судить о качестве вакцинации, направленности иммунологических реакций, о возможных рисках, что особенно важно в условиях многолетнего неблагоприятного эпидемиологического прогноза в отношении заболевания людей чумой. Иммунологический мониторинг среди населения, проживающего на территориях природных очагов инфекции, можно отнести к мероприятиям, направленным на оптимизацию и повышение эффективности специфических профилактических и противоэпидемических мер [14].

Цель работы – провести комплексное иммунологическое исследование вакцинированных против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага, охарактеризовать иммунологическую эффективность и безопасность вакцины чумной живой.

Материалы и методы

В работе исследовали образцы периферической крови и сыворотки крови, полученные от 17 женщин и 3 мужчин в возрасте от 24 до 53 лет (средний возраст 43,3 года), проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы в Лаганском (г. Лагань) и Черноземельском (п. Артезиан) районах Республики Калмыкия. Выбранные для мониторинга территории являются экологически благополучными и на момент исследования были близки по эпизоотологической активности. Исследование по иммунологическому обследованию вакцинированных лиц, проживающих в природных очагах чумы, выполнялось в рамках Распоряжения Правительства РФ №1864 от 05.09.2016 г. Начало работ приходилось на период, предшествующий очередной ревакцинации ВЧЖ. Отбор контингента осуществлялся медицинскими работниками центральных районных больниц из числа вакцинированных в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям [6]. Все исследуемые лица (20 человек) были вакцинированы ВЧЖ однократно подкожно в дозе $2,4 \times 10^9$ живых микробных клеток в 0,15 мл (в соответствии с инструкцией по применению) в 2014 г. и ревакцинированы в 2015 г. Иммунологический мониторинг стартовал непосредственно перед второй ревакцинацией в 2016 г. и продолжался в течение 1 года. У всех участников исследования было получено информированное согласие. Работа была одобрена в 2016 г. этическим комитетом при ФГБУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского».

Вакцинацию осуществляли в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами «Профилактика чумы» СП 3.1.7.2492-09, используя коммерческую вакцину чумную живую (лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, кожного скарификационного нанесения и ингаляций, производство ФКУЗ «Ставропольский

научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора). Вакцина представляет собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV линии НИИЭГ со стабилизатором.

Забор крови из локтевой вены для иммунологического анализа проводили в соответствии с ГОСТ Р 53079.4-2008 до второй ревакцинации ВЧЖ и через 1, 6 и 12 месяцев после ее осуществления. Кровь, предназначенную для определения концентрации иммуноглобулинов и уровня продукции цитокинов, забирали в пробирки «VACUTEST» (КИМА, Италия) с антикоагулянтом (гепарин или K_3 ЭДТА). Образцы хранили при температуре 4–8 °С. Для оценки уровня продукции цитокинов гепаринизированную венозную кровь разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко, Испания), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ФГУП «Мосхимфармпрепараты им. Н.А. Семашко», Россия). В один из опытных образцов вносили Т-клеточный митоген конканавалин А (Sigma, США) в концентрации 15 мкг/мл, в контрольный физиологический раствор. Опытный и контрольный образцы инкубировали в течение 24 часов при температуре 37 °С [15]. Уровни спонтанной и индуцированной конканавалином А продукции цитокинов (INF- γ , TNF- α , IL-4, и IL-17), а также концентрации иммуноглобулинов (IgE, IgG, IgM и IgA) тестировали с применением соответствующих наборов реагентов («АО Вектор-Бест», Россия или eBioscience, Австрия). Учет результатов проводили с использованием микропланшетного фотометра для иммуноферментного анализа Stat Fax-3200 (Awareness Technology, США) и спектрофотометра Genesys 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкциям производителей приборов.

Для определения титров антител к фракции 1 чумного микроба использовали коммерческую тест-систему «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» (ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб», Россия) и микропланшетный фотометр Stat Fax-3200 (Awareness Technology, США). Учет результатов проводили в соответствии рекомендациями производителя. Кровь в объеме 5 мл забирали в пробирки Clot Activator «VACUTEST» (КИМА, Италия), инкубировали при температуре 37 °С в течение 1 ч, а затем центрифугирования при 400 g, сыворотку отбирали в микропробирки и хранили до проведения исследований при температуре минус 20 °С.

Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотках крови определяли на спектрофотометре Genesys 10S UV-Vis (Thermo Fisher Scientific, США) методом преципитации 3,5 % раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000) (ПанЭко, Испания) по изменению величины светового рассеяния. Процент пропускания определяли по шкале «Т» при длине волны 450 нм [16].

Фенотипирование лимфоцитов крови осуществляли на проточном цитометре CyAn ADP (DacoCytomation, Дания) с использованием

наборов моноклональных антител: CD45-FITC/Cd4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, CD95(FAS)-PE (Beckman Coulter, США) и лизирующего раствора (BD BIOSCIENCES, США). Результаты учитывали в соответствии с протоколом фирмы-производителя оборудования и реагентов.

Для определения кислородзависимой функциональной активности фагоцитов крови и их биоцидного резерва использовали тест восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) – спонтанный (сНСТ) и индуцированный (иНСТ) с фотометрическим способом учета на микропланшетном фотометре для иммуноферментного анализа StatFax 3200 (Awareness Technology, США) при длине волны 630 нм. В качестве стимулятора применяли суспензию опсонизированного зимозана концентрацией 3 мг/мл. Результат выражали в единицах значений оптической плотности (mOD) и единицах индекса стимуляции (ИС), который рассчитывали как отношение значений иНСТ-теста и сНСТ-теста [16–18].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартных статистических программ («Statistica 10.0» (StatSoft Inc., США), определяли среднее значение анализируемого показателя (M), ошибку средней арифметической (m), максимальные и минимальные значения, медиану и интерквартильный размах – Me ($Q_{25} - Q_{75}$ %). Достоверность уровня различия сравниваемых величин оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Комплексное иммунологическое обследование вакцинированных против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага этой инфекции, проводили в соответствии с разработанным ранее алгоритмом, направленным на оценку состояния клеточного и гуморального звеньев системы врожденного и адаптивного иммунитета (до и в различные сроки после второй ревакцинации); выявление возможных нарушений функционирования иммунной системы до очередного введения ВЧЖ и доказательство безопасности последующей ревакцинации.

О состоянии иммунитета судили по результатам фенотипирования лимфоцитов, уровню титров специфических антител, спонтанной и индуцированной продукции цитокинов: IFN- γ , TNF- α , IL-4 и IL-17, соотношению Th1 и Th2 субпопуляций лимфоцитов, а также по результатам определения функциональной активности нейтрофилов.

Важными критериями эффективности вакцинации, отражающими состояние клеточного звена противочумного иммунитета, являются изменения соотношения Т- и В-лимфоцитов и регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, несущих маркеры дифференцировки: CD3+ (общий для всех Т-лимфоцитов), CD3+CD4+, CD3+CD8+.

На протяжении всего периода наблюдения за вакцинированными лицами отмечали тенденцию к увеличению CD4+ клеток, через 6 месяцев регистрировали повышение количества CD8+ клеток, но к году их число начинало снижаться (табл. 1). Планомерно на протяжении всего периода наблюдения нарастало и количество NK-клеток. Через 6 месяцев после очередной ревакцинации у 55% обследованных лиц иммунорегуляторный индекс (ИРИ = CD4+/CD8+) был выше исходного уровня (до ревакцинации), у 30% – ниже, а у 15% – на том же уровне, что и до ревакцинации. Повышение процентного содержания Т-хелперов CD4+ в крови, увеличение значения индекса CD4+/CD8+ после очередной ревакцинации ВЧЖ свидетельствовали о формировании адаптивного клеточного иммунитета у более половины ревакцинированных ($p < 0,05$).

Данные об активации клеточного звена иммунной системы при фенотипировании клеток с использованием проточной цитометрии подтверждали результаты оценки спонтанной и митоген-индуцированной продукции биомаркерных цитокинов в культуре клеток крови.

Для характеристики иммунологической перестройки в организме вакцинированных ВЧЖ лиц проводили оценку в динамике уровня спонтанной и индуцированной продукции Th1 (INF- γ , TNF- α), Th2 (IL-4) и Th17 (IL-17) ассоциированных цитокинов. Исследование уровней цитокинов в культурах клеток цельной крови наиболее адекватно отражает ситуацию *in vivo*, сохраняя условия микроокружения, и позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о соотношении процессов активации Т-хелперов, о развитии иммунного ответа по клеточному (Th1), гуморальному (Th2) или смешанному типу.

При определении цитокинового статуса перед второй ревакцинацией у жителей Лаганского и Черноземельского районов были отмечены высокие уровни спонтанной продукции биомаркерных цитокинов Th1 клеток – IFN- γ и TNF- α (рис. 1). Регистрируемые значения спонтанной продукции IFN- γ клетками цельной крови в 100% случаев превышали установленные верхние границы нормы для условно здоровых доноров (0–14 пг/мл) – в среднем в 13,5 раза. Достоверное превышение уровня спонтанной продукции TNF- α (1–42 пг/мл) в среднем в 4,2 раза отмечали у 95% обследованных лиц. В то же время уровни продукции биомаркерных цитокинов Th2 клеток (IL-4) и Th17 клеток (IL-17) были низкими и в 90% случаев не выходили за обозначенные пределы их физиологической нормы (0–2,4 пг/мл и 1–10 пг/мл соответственно). На этом фоне наблюдали неоднозначную реакцию Th1, Th2 и Th17 клеток на индукцию конканавалином А. Уровни индуцированной продукции IFN- γ в 90% случаев были выше спонтанной в среднем в 3,4 раза. Превышение индуцированной продукции TNF- α

Таблица 1.

Результаты определения иммунологических показателей у вакцинированных ВЧЖ лиц (n=20), проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы в Лаганском и Черноземельском районах Республики Калмыкия

Results of the immunological parameters determination for persons vaccinated with high blood pressure (n = 20) living on the territory of the Pre-Caspian sandy natural foci of the plague in the Lagansky and Chernozemelsky districts of the Republic of Kalmykia

Показатель Index	Значения для условно здоровых доноров Values for conditionally healthy donors	До 2 ревакцинации Up to 2 revaccinations	Через 1 месяц After 1 month	Через 6 месяцев After 6 month	Через 12 месяцев After 12 month
Уровни регистрации CD4+, CD8+ лимфоцитов в крови in blood (%), M ± m					
CD4+	–	25,57 ± 7,20	–	35,20 ± 4,40	41,57 ± 4,47
CD8+	–	20,54 ± 4,80	–	30,57 ± 4,31	22,21 ± 3,50
Обратные значения титра антител Inverse values of antibody titer M±m					
Титр Titr	–	1198 ± 228,0	1398 ± 255,93	737 ± 109,62	1104 ± 130,97
Содержание IgG, IgM, IgA в сыворотке крови (МЕ/мл), Me (Q ₂₅ – Q ₇₅ %) in blood serum					
IgG	5,3–16,5	9,27 (5,3 – 28,6)	7,02 (5,37 – 17,2)	17,34 (13,46 – 35,34)	5,2 (3,14 – 6,71)
IgM	0,5–2,0	2,08 (1,49 – 5,44)	2,95 (2,14 – 5,48)	4,70 (1,72 – 4,88)	1,09 (0,84 – 1,3)
IgA	0,8–4,0	5,1 (3,86 – 7,62)	5,54 (3,37 – 6,61)	3,68 (2,76 – 6,88)	0,83 (0,73 – 1,27)
Результаты НСТ-теста (спонтанного и индуцированного зимозаном) Results of the ETS test (spontaneous and zymosan-induced) (mOD), M±m					
с-НСТ-тест sETS test	–	38 ± 16	471,6 ± 57,4	572,3 ± 33	418,0 ± 163,5
и-НСТ-тест iETS test	–	76,3 ± 14	709,5 ± 100	778,5 ± 166,5	521 ± 190,4
Содержание ЦИК в сыворотке крови CIC content in blood serum (%T), Me (min; max)					
ЦИК CIC	90–95%	88,0 (22,7; 99,1)	96,6 (74,8; 99,0)	94,0 (85,4; 99,2)	93,2 (71,9; 97,7)

над спонтанной было менее выражено – в среднем в 1,6 раза, при этом у 25% обследованных лиц эти показатели были почти равнозначны. Повышение продукции IL-4 при индукции митогеном произошло только в 20% случаев. Наиболее выраженная реакция на стимуляцию конканавалином А отмечена для IL-17. Индуцированная продукция IL-17 отличалась от спонтанной в среднем в 34,8 раза.

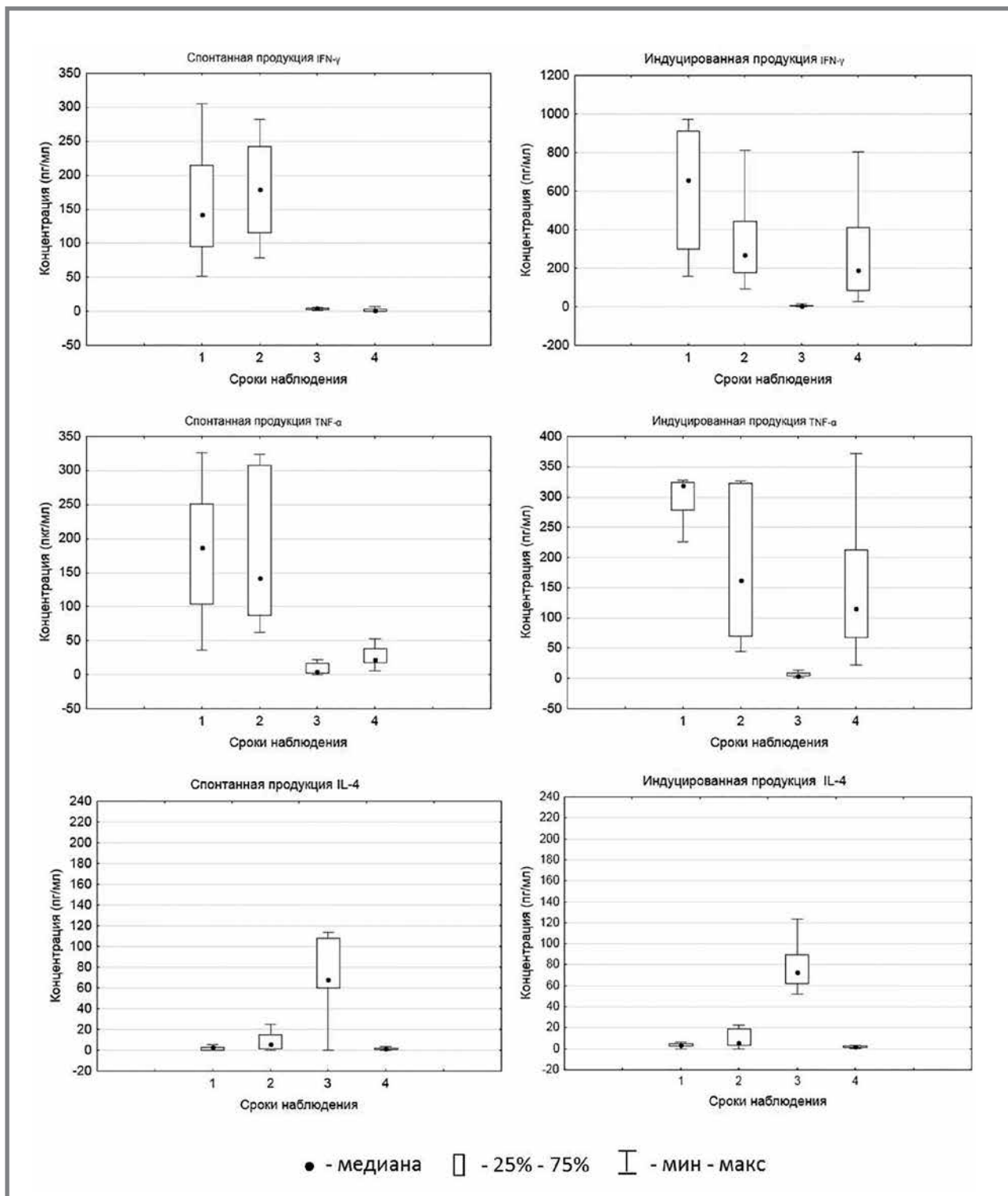
Результаты проведенного исследования цитокинового статуса перед второй вакцинацией свидетельствовали об иммунологической перестройке, сохраняющейся на высоком уровне через год после первой ревакцинации и развивающейся по Th1-типу с высокой продукцией IFN-γ, TNF-α и низкой – IL-4. В этот срок наибольшие изменения были отмечены для спонтанной продукции IFN-γ и индуцированной продукции IFN-γ и IL17. При анализе полученных накануне второй ревакцинации данных было обращено внимание на достоверное

различие средних значений уровней спонтанной продукции IFN-γ в 2,3 раза выше у обследованных лиц из Черноземельского, чем из Лаганского района (рис. 2). В последующем этот факт отразился на степени выраженности и направленности реакции на очередную ревакцинацию.

При определении цитокинового статуса через 1 месяц после второй ревакцинации индивидуальные показатели спонтанной продукции определяемых биомаркерных цитокинов варьировали, при этом характер изменений их средних значений в ряде случаев зависел от района проживания. Спонтанная продукция IFN-γ у большинства ревакцинированных из обоих районов повышалась, однако индуцированная, характеризующая резервные возможности иммунных клеток – снижалась (см. рис. 1). Среднее значение уровня спонтанной продукции IFN-γ было выше верхней границы установленной нормы для условно здоровых доноров

Рисунок 1.

Спонтанная и индуцированная продукция $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ и $IL-4$ до и после второй ревакцинации ВЧЖ, Ме (Q25 – Q75%)
 Spontaneous and induced production of $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$ and $IL-4$ before and after the second revaccination with live plague vaccine, Me (Q25 – Q75%)



Примечание: Сроки забора крови: 1 – до второй ревакцинации; 2 – через 1 месяц после второй ревакцинации; 3 – через 6 месяцев после второй ревакцинации; 4 – через 12 месяцев после второй ревакцинации.
 Terms of blood sampling: 1 – before the second revaccination; 2 – 1 month after the second revaccination; 3 – 6 months after the second revaccination; 4 – 12 months after the second revaccination.

в 18,9 раза. Почти во всех случаях соотношение $IFN-\gamma$ и $IL-4$ было в пользу Th1 ассоциированных цитокинов. Спонтанная продукция $IL-17$ у ревакцинированных из обоих районов, так же как и в предыдущий срок, была в пределах значений,

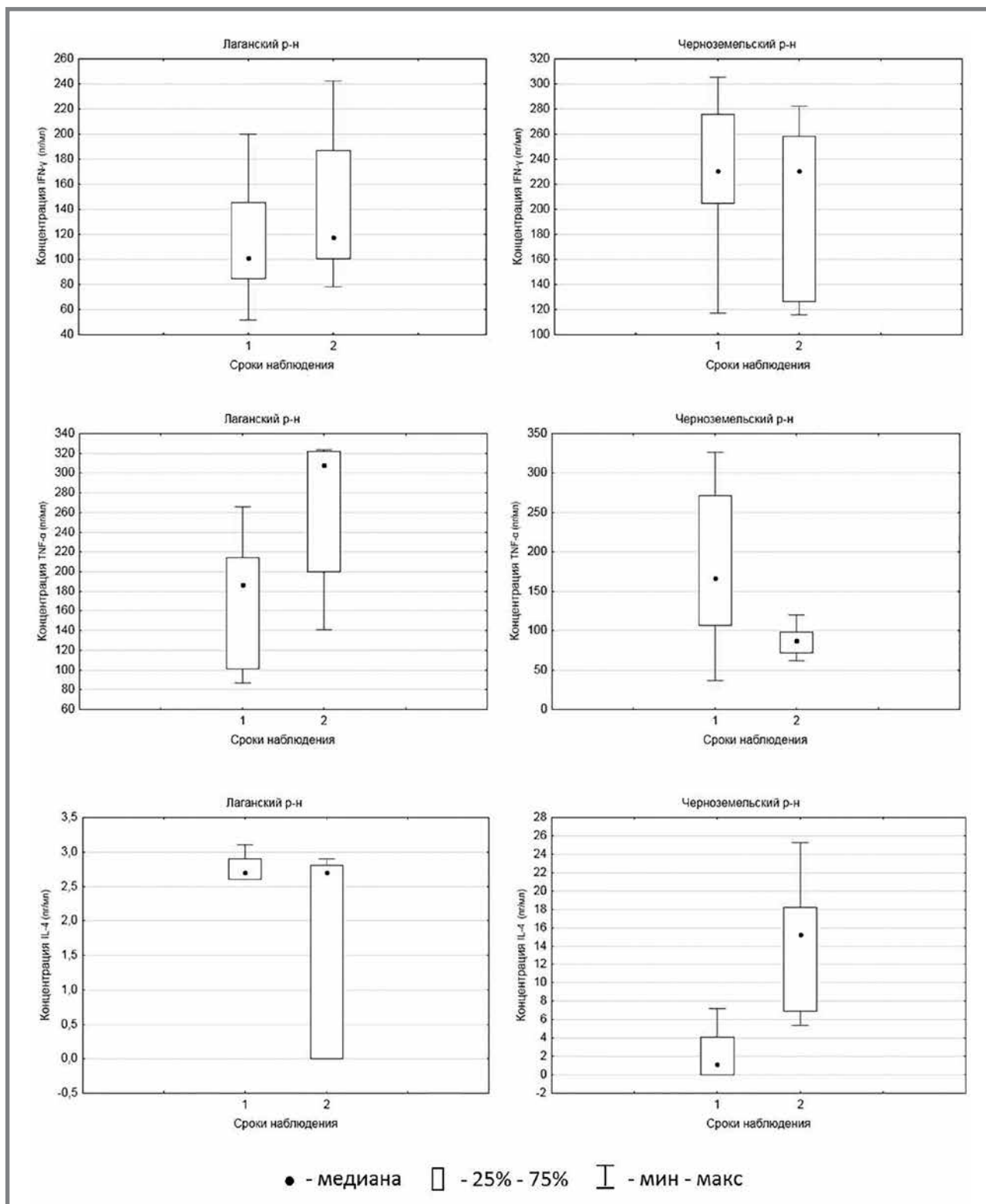
установленных для условно здоровых доноров, тем не менее, индуцированная резко снижалась.

Примечательно, что спонтанная и индуцированная продукция $TNF-\alpha$ через 1 месяц после второй ревакцинации достоверно повышалась

Рисунок 2.

Спонтанная продукция IFN- γ , TNF- α и IL-4 до и после второй ревакцинации ВЧЖ жителей Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия, Me (Q25 – Q75%)

Spontaneous production of IFN- γ , TNF- α , and IL-4 before and after the second revaccination with live plague vaccine in the residents of the Lagansky and Chernozemelsky districts of the Republic of Kalmykia, Me (Q25 – Q75%)



Примечание: Сроки забора крови: 1 – до второй ревакцинации; 2 – через 1 месяц после второй ревакцинации.
 Blood collection time: 1 – up to the second booster; 2 – 1 month after the second revaccination.

у респондентов из Лаганского района и понижалась у ревакцинированных из Черноземельского района (см. рис. 2). Противоположная

направленность изменений была для IL-4, более высокие уровни продукции IL-4 через 1 месяц после второй ревакцинации отмечали

у респондентов из Черноземельского района. Цитокин IL-4 (первоначально известный, как фактор 1 В-клеточной активации или дифференцировки) индуцирует селективное переключение В-клеток на синтез IgG1 и IgE. Он также влияет на Т-клетки, как фактор роста, способствуя дифференцировке Th2-лимфоцитов и усиливая тем самым антителообразование [15]. Повышение уровня IL-4 в этот период свидетельствовало о наметившейся тенденции к изменению состояния иммунной системы, которое впоследствии выразилось в переключении иммунного ответа с Th1 на Th2. Вместе с тем у ревакцинированных жителей Лаганского района отмечали достоверно более высокие уровни продукции IL-10, превышение было в среднем 4,5 раза. Цитокин IL-10 также как и IL-4 подавляет синтез IFN- γ . Такие скоординированные различия в продукции цитокинов отмечали только через 1 месяц после ревакцинации. В поиске возможных причин особенностей иммунного ответа на ревакцинацию нами были определены аллельные варианты гаплотипов II класса главного комплекса гистосовместимости HLA-DRB1, HLA-DQA1 и HLA-DQB1 у обследованных лиц. В ходе экспериментов была выявлена особенность в распределении аллельных вариантов HLA-DQA1 и HLA-DRB1 у жителей Лаганского района [19]. Тем не менее, для утверждения о связи обнаруженного феномена с превалированием определенных гаплотипов необходимо существенное расширение охвата обследуемых лиц, что послужит предметом наших дальнейших исследований.

Полученные данные свидетельствуют об активации иммунного процесса в ответ на вторую ревакцинацию, выразившегося: нарастанием уровня спонтанной продукции IFN- γ у привитых из Лаганского района и TNF- α у вакцинированных из Черноземельского района; снижением индуцированной продукции IFN- γ , IL-17 и наметившимся повышением уровня IL-4 преимущественно у лиц из Черноземельского района, а IL-10 – у лиц из Лаганского района.

Через 6 месяцев после второй ревакцинации регистрировали изменение цитокинового статуса (см. рис. 1). Уровни спонтанной продукции биомаркерных цитокинов Th1 клеток – IFN- γ и TNF- α , у всех обследованных лиц резко снижались по сравнению с соответствующими значениями до очередной ревакцинации в среднем в 45,5 и 32,2 раза соответственно. В целом данные показатели в 100% случаев возвращались в пределы, установленные для условно здоровых доноров или были близки к ним. На этом фоне в 95% случаев продукция IL-4 была в среднем в 10,9 раза выше, чем в предыдущий срок забора крови после второй ревакцинации. Во всех случаях соотношение IFN- γ и IL-4 было в пользу Th2-ассоциированных цитокинов. Индуцированная конканавалином А продукция IFN- γ , TNF- α , IL-4 достоверно не отличалась от спонтанной.

Результаты проведенного через 6 месяцев после второй ревакцинации тестирования свидетельствуют о переключении иммунного ответа с Th1-типа на Th2-тип. Для этого периода характерно отсутствие различий между индуцированной и спонтанной продукцией большинства цитокинов.

Через 12 месяцев после второй ревакцинации показатели уровня спонтанной продукции IFN- γ продолжили снижение, а уровни TNF- α несколько повышались. Однако в подавляющем большинстве случаев значения определяемых цитокинов находились в пределах обозначенной нормы для условно здоровых доноров. Уровень спонтанной продукции IL-4 выравнивался, также снижаясь до нормальных значений. В этот срок восстанавливалась способность Th1 и Th17 клеток отвечать на стимуляцию конканавалином А. Следует отметить, что индуцированная продукция IFN- γ , TNF- α , и IL-17 оставаясь достаточно высокой, не достигала значений, регистрируемых перед началом второй ревакцинации.

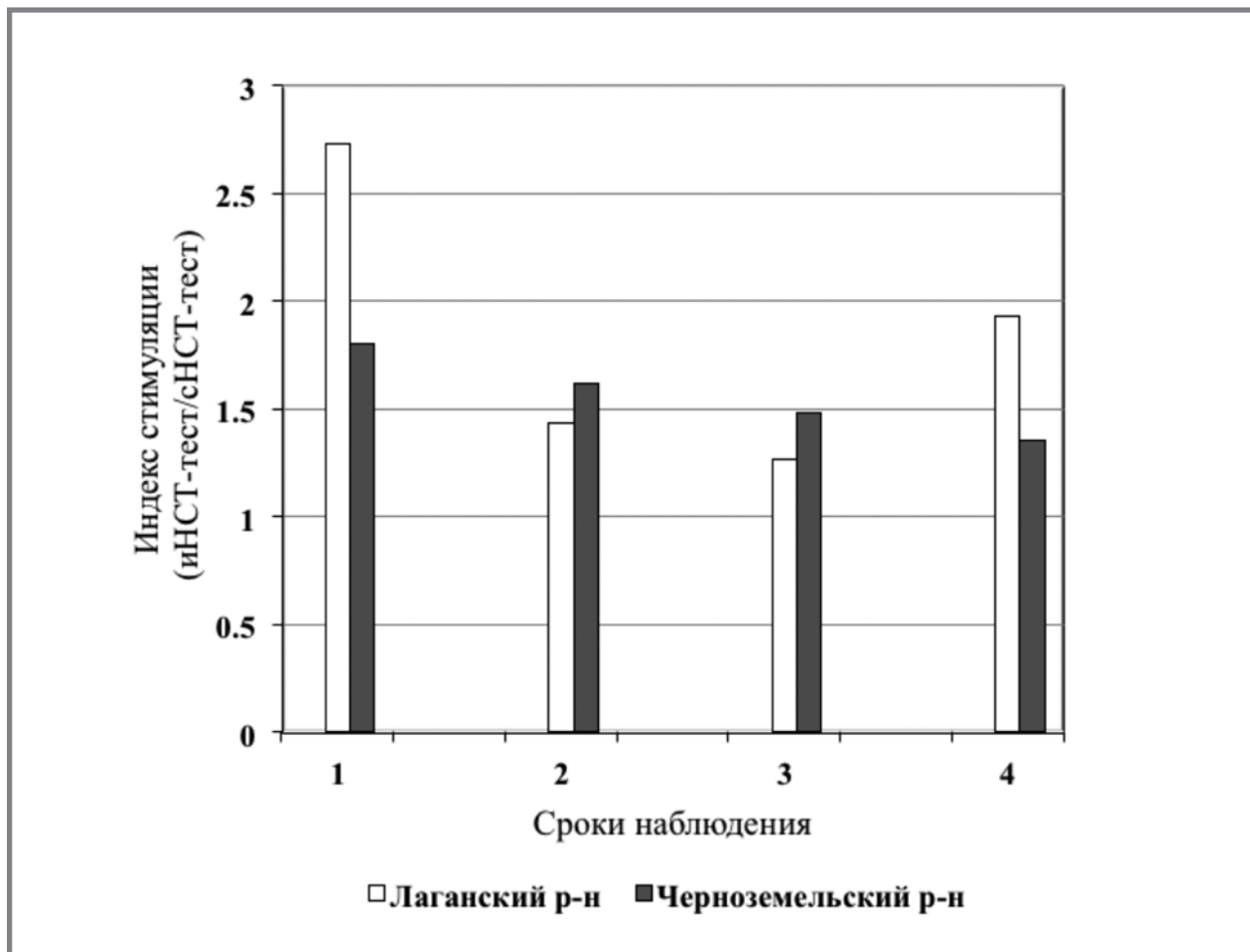
Следовательно, спустя год после второй ревакцинации ВЧЖ в большинстве случаев отмечали иммунобиологическую перестройку организма по смешанному типу, при этом уровни спонтанной и индуцированной продукции изученных цитокинов были ниже, чем через год после первой ревакцинации.

Определение в динамике титров антител к фракции 1 чумного микроба выявило следующие закономерности. До проведения второй ревакцинации высокие титры специфических антител (1:1280 – 1:5120) регистрировали в сыворотке крови 12 человек (60% обследованных лиц), у одного вакцинированного их уровень не превышал диагностический титр для используемой тест-системы, а у 7 человек (35%) специфические антитела не выявлялись. В ответ на вторую ревакцинацию среди лиц с отсутствием специфических антител у более половины обследованных регистрировали положительную сероконверсию – титры специфических антител выросли в 8 – 16 раз. Для респондентов с высоким исходным фоном титры антител оставались на том же уровне или увеличивались максимум в 2 раза. Титры антител выше диагностического значения (1:80) через месяц после очередной ревакцинации регистрировали в 85% случаев. Через 6 и 12 месяцев происходило постепенное снижение интенсивности антителообразования у большинства лиц с исходно высоким уровнем специфических антител. В то же время для участников исследования с низкими титрами специфических антител наблюдали положительную динамику. Корреляции титров антител к фракции 1 чумного микроба с изменениями показателей функциональной активности клеточных факторов иммунитета выявлено не было.

По литературным данным, процент положительной сероконверсии у лиц, вакцинированных ВЧЖ, не достигает 100% и варьирует в пределах

Рисунок 3.

Значение индекса стимуляции НСТ-теста (иНСТ-тест/сНСТ-тест) до и после второй ревакцинации ВЧЖ
The value of the stimulation index of the ETS test (iETS test/sETS test) before and after the second revaccination with live plague vaccine



Примечание: Сроки забора крови: 1 – до второй ревакцинации; 2 – через 1 месяц после второй ревакцинации; 3 – через 6 месяцев после второй ревакцинации; 4 – через 12 месяцев после второй ревакцинации.
 Terms of blood sampling: 1 – before the second revaccination; 2 – 1 month after the second revaccination; 3 – 6 months after the second revaccination; 4 – 12 months after the second revaccination

от 35 до 80% [20, 21], в связи с чем, только серологическая оценка иммунологической эффективности вакцинации не отражает в полной мере истинный уровень иммунобиологической перестройки организма в ответ на введение препарата и не характеризует функциональную активность клеток врожденного и адаптивного иммунитета.

При проведении корреляционного анализа достоверных взаимосвязей между показателями основных классов иммуноглобулинов (IgG, IgM и IgA) и титрами специфических антител к фракции 1 чумного микроба не зарегистрировано. Небольшие колебания концентраций основных классов иммуноглобулинов варьировали в пределах референсных значений или близко к ним (см. табл. 1). Через 6 месяцев после второй ревакцинации ВЧЖ отмечали достоверное ($p < 0,05$) повышение концентрации IgG и IgM, через 12 месяцев – снижение концентрации IgG, IgM и IgA.

Среди широкого спектра проявлений функциональной активности фагоцитов крови

(нейтрофильных гранулоцитов) особое место отводится кислородзависимому метаболизму – уникальной системе немитохондриального дыхания клетки, который резко возрастает в процессе точной активации и сопровождается увеличением продукции активных форм кислорода (супероксида аниона, пероксида водорода, гидроксила радикала и синглетного кислорода) [22]. Одним из основных методов исследования функциональной активности фагоцитов является тест с нитросиним тетразолием (НСТ). НСТ-тест не только выявляет фагоцитирующие нейтрофилы, но и характеризует их ферментные системы, так как интенсивность восстановления НСТ отражает состояние бактерицидных пероксидазных систем клетки и коррелирует с образованием супероксидных радикалов [23].

В результате проведенных исследований у всех обследованных лиц в ответ на вторую ревакцинацию ВЧЖ установлено достоверное ($p \leq 0,01$) повышение функциональной активности фагоцитов

крови с поддержанием их высокого уровня в течение всего последующего периода наблюдения (см. табл. 1). Вместе с тем, индекс стимуляции, характеризующий резервные возможности функциональной активности фагоцитов крови (иНСТ-тест/сНСТ-тест), после второй ревакцинации существенно не изменялся ($p > 0,05$) у обследуемых на территории Черноземельского района и незначительно снижался ($p \leq 0,01$) у лиц, проживающих на территории Лаганского района, что обусловлено повышением активности в спонтанном НСТ-тесте при изначально более низких значениях (рис. 3).

Оценку иммунологической безопасности проведенной ВЧЖ ревакцинации проводили на основании совокупного анализа результатов тестов, характеризующих изменение концентрации циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), уровня иммуноглобулина Е в сыворотке крови и экспрессии маркера апоптоза CD95+ (APO-1) (клеточного рецептора Fas лиганда).

Проведенное исследование не выявило тенденции к увеличению содержания ЦИК в сыворотке крови в ответ на очередную ревакцинацию ВЧЖ. Через 1, 6 и 12 месяцев после второй ревакцинации средние значения показателя, характеризующего уровень ЦИК в сыворотке крови, не выходили за рамки, установленные для здоровых лиц (см. табл. 1). Нарастание ЦИК отмечали в одном единственном случае – у одного жителя Лаганского района через 1 месяц после второй ревакцинации, в последующие сроки этот показатель у него соответствовал норме. Интересно, что до второй ревакцинации повышенное содержание ЦИК наблюдали у 4 (20%) человек (по 2 человека из каждого района). Величина светового рассеяния у них составила 22,7 – 33,7%Т при норме 90 – 95%Т, однако на протяжении всего дальнейшего наблюдения она статистически достоверно не отличалась от нормальных значений. Вероятно, что повышение ЦИК было обусловлено иными, не связанными с вакцинацией процессами в организме обследованных – соматические заболевания, ОРВИ и др.

Не было выявлено четкой корреляции между проведением очередной ревакцинации и повышением уровня IgE. Хотя средние значения этого показателя во все сроки исследования были высокими по сравнению с обозначенным пределом для здоровых лиц, они не превышали установленного предела в 180 МЕ/мл для безопасного протекания иммунобиологического процесса (рис. 4). До второй ревакцинации уровень IgE выше 50 МЕ/мл регистрировали у 11 человек (55%), из них 7 человек были жителями Лаганского района. Критичную для развития иммунопатологии концентрацию IgE выше 180 МЕ/мл отмечали только у 4 (20%) респондентов. Через месяц после второй ревакцинации у 3-х содержание Ig E сохранялось на высоком уровне, а у четвертого значительно снизилось. Кроме того, в этот срок концентрация

IgE выше 180 МЕ/мл была зарегистрирована еще у 2 жителей Лаганского района. Для остальных респондентов существенных изменений уровня IgE не наблюдали. В отдаленные сроки – через 6 и 12 месяцев после второй ревакцинации, концентрация IgE выше 180 МЕ/мл регистрировали у 3 человек, через год – у одного. При анализе причин высокого фонового значения IgE до начала второй ревакцинации нельзя исключить влияние не связанных с ВЧЖ факторов.

Дополнительным подтверждением относительной безопасности ВЧЖ явились результаты фенотипирования лимфоцитов крови с использованием проточной цитометрии. Установлено, что до начала второй ревакцинации экспрессия маркера апоптоза CD95+(APO-1) циркулирующими в крови лимфоцитами была низкой – $(0,07 \pm 0,01\%)$, в последующие после очередной вакцинации сроки не происходило её увеличение, и к 6 месяцам она составила $(0,05 \pm 0,01\%)$.

В целом полученные нами данные не противостоят установленному ранее факту относительной иммунологической безопасности ВЧЖ. Однако при планировании мероприятий по вакцинации ВЧЖ, следует обращать внимание на присутствие среди вакцинированного (ревакцинированного) контингента лиц с высоким уровнем IgE, поскольку не проводились исследования сенсibiliзирующего действия многократной вакцинации ВЧЖ у склонных к аллергическим заболеваниям людей.

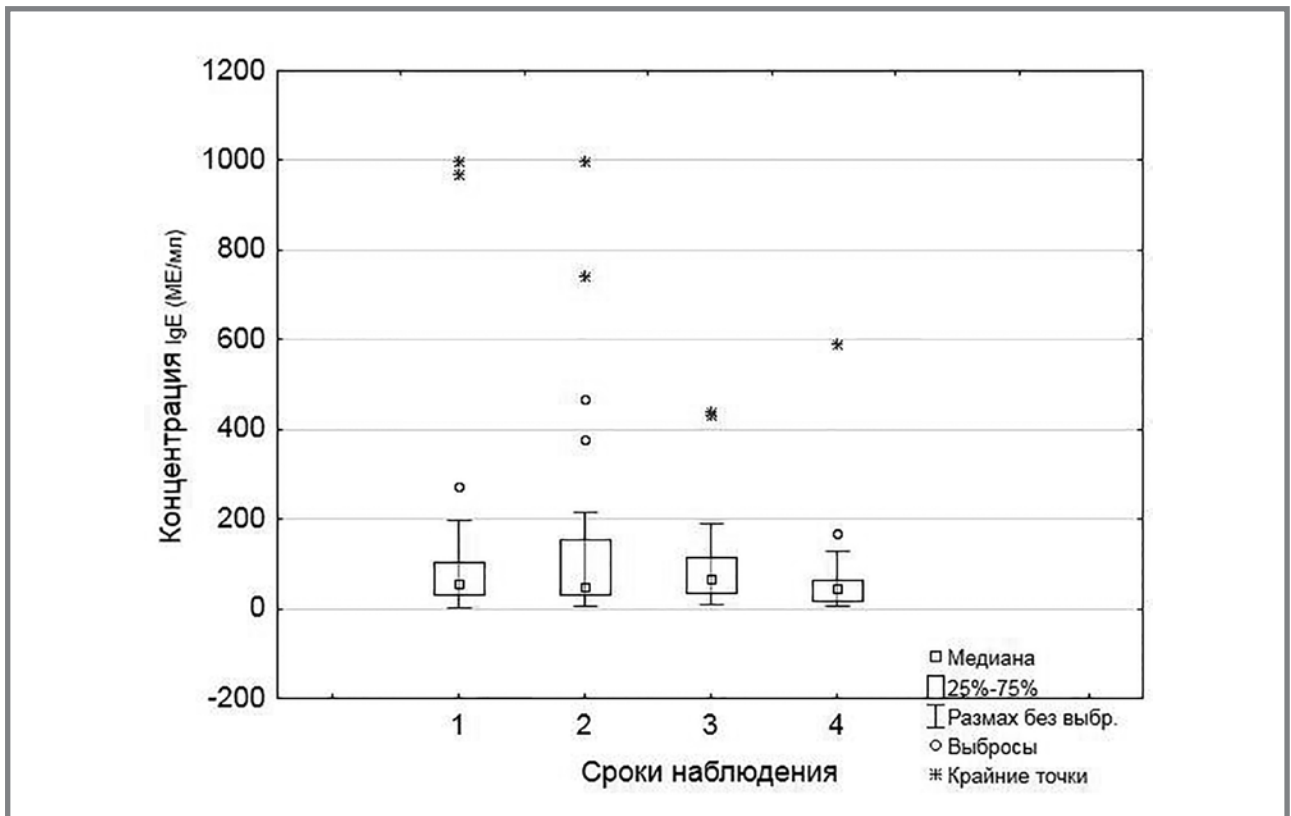
Заключение

Таким образом, в результате проведенного комплексного иммунологического мониторинга за вакцинированными ВЧЖ лицами, проживающими на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Лаганском и Черноземельском районах Республики Калмыкия, установлены некоторые особенности развития клеточных и гуморальных реакций. Об активации клеточного звена иммунной системы свидетельствовали результаты фенотипирования лимфоцитов и оценки спонтанной и митоген-индуцированной продукции цитокинов. Повышение процентного содержания CD4+ в крови и увеличение значения индекса CD4+/CD8+ после второй ревакцинации ВЧЖ происходило у более половины респондентов. Выявлено, что непосредственно перед второй ревакцинацией (через год после первой ревакцинации или 2 года после вакцинации) у всех обследованных лиц сохранялся выраженный иммунный ответ, характеризующийся высоким уровнем спонтанной и индуцированной продукции Th1-ассоциированных цитокинов. Вторая ревакцинация приводила к избирательному повышению или снижению значений спонтанной продукции биомаркеров Th1 и Th2 иммунного ответа при уменьшении резервных функциональных возможностей иммунных клеток, выявляемых при митогенной активации. Через 6 месяцев после второй ревакцинации в 100 %

Рисунок 4.

Содержание IgE в сыворотке крови до и после второй ревакцинации ВЧЖ, Me (Q25 – Q75%)

IgE in the blood serum before and after the second revaccination with live plague vaccine, Me (Q25 – Q75%)



Примечание: Сроки забора крови: 1 – до второй ревакцинации; 2 – через 1 месяц после второй ревакцинации; 3 – через 6 месяцев после второй ревакцинации; 4 – через 12 месяцев после второй ревакцинации.

Terms of blood sampling: 1 – before the second revaccination; 2 – 1 month after the second revaccination; 3 – 6 months after the second revaccination; 4 – 12 months after the second revaccination

случаев отмечали достоверное изменение цитокинового статуса – переключение иммунного ответа с Th1-типа на Th2-тип и почти полное отсутствие реакции на митогенную стимуляцию. Через 12 месяцев уровни спонтанной продукции изученных цитокинов возвращались к значениям, установленным для условно здоровых доноров, при этом частично восстанавливалась способность Th1 и Th17 клеток отвечать на стимуляцию конканавалином А. В спонтанном и индуцированном НСТ-тестах отмечено повышение функциональной активности фагоцитов крови с поддержанием высоких значений в течение всего периода наблюдения. Развитие

специфического гуморального иммунитета в ответ на вторую ревакцинацию ВЧЖ отмечали у 85% обследованных лиц. На протяжении всего исследования динамика титров антител к F1 чумного микроба была индивидуальна и не коррелировала с показателями клеточного иммунитета.

Проведенное комплексное исследование подтвердило относительную безопасность ВЧЖ. Дальнейший иммунологический мониторинг с расширением охвата вакцинированного ВЧЖ контингента будет способствовать созданию объективной основы для совершенствования стратегии специфической профилактики чумы в природных очагах этой инфекции.

Литература

1. Попов Н. В., Безмертный В. Е., Матросов А. Н., Князева Т. В., Кузнецов А. А., Федоров Ю. М. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2014 г. и прогноз на 2015 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2015; 1: 10–17.
2. Попов Н. В., Безмертный В. Е., Матросов А. Н., Князева Т. В., Кузнецов А. А., Федоров Ю. М. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 1: 13–9.
3. Попова А. Ю., Кутырев В. В., Ежлова Е. Б., Демина Ю. В., Пакскина Н. Д., Щучинов Л. В. и др. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 4: 5–10.
4. Попов Н. В., Матросов А. Н., Князева Т. В., Кузнецов А. А., Федоров Ю. М., Попов В. П. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2016 г., прогноз на 2017 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2017; 1: 5–12.
5. СП 3.1.7.34650-17. Профилактика чумы.
6. Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям. Приказ Министерства здравоохранения РФ № 125н; 2014.
7. Одинокоев Г. Н., Ерошенко Г. А., Краснов Я. М., Куклева Л. М., Черкасов А. В., Шавина Н. Ю. и др. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680-SNP алгоритма. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 4: 5–10.
8. Бугоркова С. А., Девдариани З. Л., Шуковская Т. Н., Кутырев В. В. Исторические и современные представления о проблеме специфической профилактики чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 3: 63–69.
9. Супотницкий М. В., Супотницкая Н. С. Очерки истории чумы. Москва: Вузовская книга; 2006.

10. Богачева Н. В., Дармов И. В., Кучеренко А. С., Крючков А. В., Вахнов Е. Ю. Оценка иммунореактивности лиц, вакцинированных чумной, сибирязвенной, бруцеллезной, туляреминой живыми сухими вакцинами и противоботулиническим трианатаксином, в зависимости от уровня иммунологической нагрузки. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2013; 6(73): 79–84.
11. Богачева Н. В., Крючков А. В., Дармов И. В., Воробьев К. А., Печенкин Д. В., Елагин Г. Д. и др. Экспериментальная оценка методом проточной цитофлюориметрии уровня клеточной иммунологической памяти у лиц, вакцинированных против чумы и сибирской язвы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 11: 48–53.
12. Фирстова В. В., Калмантаева О. В., Горбатов А. А., Кравченко Т. Б., Тюрин Е. А., Бондаренко Н. Л. и др. Оценка специфического гуморального и клеточного иммунитета у людей, периодически вакцинирующихся против чумы. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2015; 3: 62–68.
13. Куличенко А. Н., Абзаева Н. В., Гостищева С. Е., Ракитина Е. Л., Пономаренко Д. Г., Костюченко М. В. Использование антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7 (2): 203–208.
14. Нафеев А. А., Савельева Н. В., Сибяева Э. И. Иммунологический (серологический) мониторинг в системе эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21 (5): 286–287.
15. Щуковская Т. Н., Смолькова Е. А., Шмелькова Т. П., Ключева С. Н., Бугоркова С. А. Индуцированная продукция IFN γ и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; 6 (61): 78–83.
16. Медицинские лабораторные технологии. Справочник. Карпищева А.И. ред. Санкт Петербург: Интермедика; 2002.
17. Клиническая иммунология. Караулова А. В., ред. Москва: Медицинское информационное агентство; 1999.
18. Годков М. А., Зинкин В. Ю. Способ диагностики функционального состояния нейтрофилов человека. Патент РФ № 2218567; 2003.
19. Кудрявцева О. М., Щуковская Т. Н., Микшис Н. И., Ключева С. Н., Бугоркова С. А., Санджиев Д. Н. и др. Выявление ассоциаций генов HLA II класса главного комплекса гистосовместимости с особенностями иммунного ответа у лиц, вакцинированных живой чумной вакциной в республике Калмыкия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 3: 95–99. DOI:10.21055/0370-1069-2017-3-95-99.
20. Дальвадьянтс С. М., Дятлов И. А., Еремин С. А., Кутырев В. В. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 2. Иммунизирующая и ревакцинирующая активность препаратов для специфической профилактики чумы в экспериментах на морских свинках. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2003; 86: 123–132.
21. Ляпина А. М., Федорова В. А., Хижнякова М. А., Телепнев М. В., Мотин В. Л. Рекомбинантные полипептиды как биомаркеры оценки иммунологической эффективности вакцинации живой чумной вакциной у людей. *Медицинский академический журнал*. 2012; 12 (3): 85–87.
22. Долгушин И. И., Бухарин О. В. Нейтрофилы и гомеостаз. Екатеринбург: УрО РАН; 2001.
23. Маянский Д. Н. Лекции по клинической патологии. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008.

References

1. Popov N. V., Bezsmertny V. E., Matrosov A. N., Knyazeva T. V., Kuznetsov A. A., Fedorov Y. M. et al. Epizootic activity of natural plague foci in the territory of the Russian Federation in 2014 and prognosis for 2015. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2015; 1: 10–17 (in Russian).
2. Popov N. V., Bezsmertny V. E., Matrosov A. N., Knyazeva T. V., Kuznetsov A. A., Fedorov U. M. et al. Epizootic activity of natural plague foci in the territory of the Russian Federation in 2015 and prognosis for 2016. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; 1: 13–9 (in Russian).
3. Popova A. U., Kutyrev V. V., Ezhlova E. B., Demina U. V., Paksina N. D., Shchuchinov L. V. et al. Coordination of measures of plague control institutions, aimed at rehabilitation and sanitation of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2016. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; 4: 5–10 (in Russian).
4. Popov N. V., Matrosov A. N., Knyazeva T. V., Kuznetsov A. A., Fedorov U. M., Popov V. P. et al. Epizootic activity of natural plague foci in the territory of the Russian Federation in 2016 and prognosis for 2017. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; 1: 5–12 (in Russian).
5. Sanitary rules 3.1.7.3465-17. Prevention of plague.
6. On the approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations for epidemiological indications. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 125n; 2014 (in Russian).
7. Odinokov G. N., Eroshenko G. A., Krasnov Y. M., Kukleva L. M., Cherkasov A. V., Shavina N. Y. et al. Analysis of the genome wide sequence of yersinia pestis strains based on the consecutive 680-snp algorithm. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2013; 3: 49–54 (in Russian).
8. Bugorkova S. A., Devdariani Z. L., Shchukovskaya T. N., Kutyrev V. V. Historical and modern views on the problem of specific plague prophylaxis. *problems of particularly dangerous infections*. 2013; 3: 63–69 (in Russian).
9. Supotnitskiy M. V., Supotnitskaya N. C. Essays on the history of the plague. Moscow: The University Book; 2006 (in Russian).
10. Bogacheva N. V., Darmov I. V., Kucherenko A. S., Kryuchkov A. V., Vakhnov E. Y. Evaluation of immunoreactivity of persons vaccinated with plague, anthrax, brucellosis, tularemia live dry vaccine and botulinum antitoxin depending on the level of immunological stress. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2013; 6 (73): 79–84 (in Russian).
11. Bogacheva N. V., Kryuchkov A. V., Darmov I. V., Vorobiev K. A., Pechenkin D. V., Elagin G. D. et al. The experimental evaluation with flow cytofluorimetry technique of the level of cellular immunologic memory in persons vaccinated against plague and anthrax. *Clinical laboratory diagnostics*. 2013; 11: 48–53 (in Russian).
12. Firsova V. V., Kalmantaeva O. V., Gorbato A. A., Kravchenko T. B., Tjurin E. A., Bondarenko N. L. Specific humoral and cellular immunity in humans periodically vaccinated against plague. *Immunopathology, allergology, infectology*. 2015; 3: 62–68 (in Russian).
13. Kulichenko A. N., Abzaeva N. V., Gostishcheva S. E., Rakitina E. L., Ponomarenko D. G., Kostyuchenko M. V. The antigen-specific cell *in vitro* tests for post-vaccination antiplague immunity formation. *Russian Journal of Infection and immunity*. 2017; 7 (2): 203–208 (in Russian).
14. Nafeev A. A., Savelyeva N. V., Sibaeva E. I. Immunological (serological) monitoring in the epidemiological surveillance system of natural – focal infections. *Epidemiology and infectious diseases*. 2016; 21 (5): 286–287 (in Russian).
15. Shchukovskaya T. N., Smolkova E. A., Shmelkova T. P., Klueva S. N., Bugorkova S. A. Induced production of IFN- γ and IL-4 as an indicator of functional activity human Th1 and Th2 cells after plague vaccination. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2011; 6 (61): 78–83 (in Russian).
16. Medical laboratory technologies. Directory. Karpischeva A.I. ed. St. Petersburg: Intermedica; 2002 (in Russian).
17. Clinical Immunology. Ed.: Karaulov A.V. Moscow: Medical News Agency; 1999 (in Russian).
18. Godkov M. A., Zinkin V. Y. Method of diagnosing the functional state of human neutrophils. Patent of the RF № 2218567; 2003 (in Russian).
19. Kudryavtseva O. M., Shchukovskaya T. N., Mikshis N. I., Klyueva S. N., Bugorkova S. A., Sandzhiev D. N. et al. Identification of HLA II class gene associations of the main histocompatibility complex with peculiarities of immune response in persons vaccinated with live plague vaccine in the republic of Kalmykia. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2017; 3: 95–99. (in Russian)/ DOI:10.21055/0370-1069-2017-3-95-99.
20. Dalvadyants S. M., Dyatlov I. A., Eremin S. A., Kutyrev V. V. Studies on immunization against plague. Communication 2. Immunizing and revaccinating activity of drugs for specific prevention of plague in experiments on guinea pigs. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2003; 86: 123–132 (in Russian).
21. Lyapina A. M., Fedorova V. A., Khizhnyakova M. A., Telepnev M. V., Motin V. L. Recombinant polypeptides as biomarkers for assessing the immunological efficacy of vaccination with live plague vaccine in humans. *Medical academic journal*. 2012; 12 (3): 85–87 (in Russian).
22. Dolgushin I. I., Bucharin O. V. Neutrophils and homeostasis. Ekaterinburg: Ural Branch of RAS; 2001 (in Russian).
23. Mayansky D. N. Lectures on clinical pathology. Moscow: GEOTAR-Media; 2008 (in Russian).

Об авторах

- Бугоркова Светлана Александровна – д. м. н., заведующий отделом иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
- Щуковская Татьяна Николаевна – д. м. н., главный научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
- Микшис Наталья Ивановна – д. м. н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. e-mail: rusrapi@microbe.ru, Mikshis_N@mail.ru.
- Ключева Светлана Николаевна – к. б. н., научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский

About the Authors

- Svetlana A. Bugorkova – Dr. Sci. (Med.), head of the immunology department, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
- Tatyana N. Shchukovskaya – Dr. Sci. (Med.), chief research officer of the Immunology Department, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
- Natalia I. Mikshis – Dr. Sci. (Med.), leading researcher of the Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005. Mikshis_N@mail.ru.
- Svetlana N. Klyuyeva – Cand. Sci. (Biol.), researcher of the Immunology Department Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
- Olga M. Kudryavtseva – Cand. Sci. (Biol.), researcher of the Immunology Department, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.

- противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
- Кудрявцева Ольга Михайловна – к. б. н., научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
 - Кравцов Александр Леонидович – д. б. н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
 - Гончарова Анастасия Юрьевна – к. м. н., научный сотрудник отдела иммунологии, ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46.
 - Кожевников Виталий Александрович – сотрудник ФКУЗ Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. e-mail: rpnrk1@yandex.ru.
 - Санджиев Джангар Николаевич – руководитель Управления Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, г. Элиста, ул. Балакаева, д. 8. E-mail: rpnrk1@yandex.ru.
 - Конушева Светлана Викторовна - заместитель руководителя Управления Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, г. Элиста, ул. Балакаева, д. 8. E-mail: rpnrk1@yandex.ru.
 - Савченко Сергей Павлович – начальник отдела эпидемиологического надзора Управления Роспотребнадзора по Республике Калмыкия, г. Элиста, ул. Балакаева, д. 8. E-mail: rpnrk1@yandex.ru.
 - Бембеева Елена Санановна – заведующая лабораторией особо опасных бактериальных инфекций, место работы - ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Калмыкия», г. Элиста, ул. Балакаева, д. 8, e-mail: kalmfguz08@yandex.ru
 - Щербакова Светлана Анатольевна – д. б. н., заместитель директора по научной и экспериментальной работе ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Роспотребнадзора. г. Саратов, 410005, ул. Университетская, 46. e-mail: rus-gari@microbe.ru.
 - Кутырев Владимир Викторович – академик РАН, д. м. н., директор ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Роспотребнадзора. г. Саратов, 410005, ул. Университетская, 46.
 - Alexander L. Kravtsov – Dr. Sci. (Biol.), leading researcher in the Department of Immunology Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
 - Anastasiya Yu. Goncharova – Cand. Sci. (Med.), researcher of the Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
 - Vitaly A. Kozhevnikov – researcher of the Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe». University str., 46. Saratov, Russia 410005.
 - Jangar N. Sanjiev – head of the Department of Rosпотребнадзор in the Republic of Kalmykia. Balakayeva str., 8, Elista, Russia. rpnrk1@yandex.ru.
 - Svetlana V. Konusheva – deputy head of the Department of Rosпотребнадзор in the Republic of Kalmykia. Balakayeva str., 8, Elista, Russia. rpnrk1@yandex.ru.
 - Sergey P. Savchenko – head of the Department of Epidemiological Surveillance of the Department of Rosпотребнадзор in the Republic of Kalmykia. Balakayeva str., 8, Elista, Russia. rpnrk1@yandex.ru.
 - Elena S. Bembeeveva – head of the Laboratory of Especially Dangerous Bacterial Infections, Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Kalmykia, Balakayeva str., 8, Elista, Russia. kalmfguz08@yandex.ru
 - Svetlana A. Shcherbakova – Dr. Sci. (Biol.), deputy director for scientific and experimental work of the Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», University str., 46. Saratov, Russia 410005.
 - Kutyrev Vladimir Viktorovich – Academician of the Russian Academy of Sciences, Dr. Sci. (Med.), director of the Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» University str., 46. Saratov, Russia 410005.

ИНФОРМАЦИЯ ЕРБ ВОЗ

Европейский регион по-прежнему свободен от полиомиелита, но не от рисков, связанных с ним

Европейский регион ВОЗ сохранил свой статус свободного от полиомиелита региона, о чем было сообщено на 32-м ежегодном собрании Европейской региональной комиссии по сертификации (ЕРКС; European Regional Certification Commission – RCC), состоявшемся 30–31 мая 2018 г. в Копенгагене, Дания. Независимая группа экспертов ЕРКС сделала свое заключение на основе ежегодных отчетов всех 53 государств-членов ЕРБ ВОЗ о возможных рисках распространения полиомиелита в случае появления или заноса полиовирусов.

Особую озабоченность у экспертов вызывают три страны региона (Босния и Герцеговина, Румыния, Украина), в частности из-за недостаточного уровня охвата иммунизацией, несовершенства эпиднадзора и др. проблем. ЕРКС настоятельно призывает эти страны приложить все усилия для улучшения своих программ по полиомиелиту, поскольку они ставят под угрозу свои страны, а также весь регион.

В ЕРБ ВОЗ прилагает усилия по выполнению глобального плана действий ВОЗ по снижению

риска распространения полиовирусов из учреждений после искоренения конкретных типов диких полиовирусов и последующего прекращения использования ОПВ (план GAPIII). Планом предусмотрено безопасное обращение и контеймент инфекционных и потенциально инфекционных материалов, содержащих полиовирусы, либо обеспечение их надежного хранения в специально сертифицированных ВОЗ учреждениях (poliovirus-essential facilities – PEF). Большинство государств Европейского региона планируют создать один или более таких учреждений (PEF). ЕРКС рекомендует странам, которые намереваются выбрать этот вариант, полностью осознать строгость требований к PEF (высокий уровень биобезопасности, биозащиты и др.) и меру ответственности, которую они на себя берут.

Источник: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/vaccines-and-immunization/news/news/2018/6/european-region-remains-free-of-polio,-but-not-of-polio-related-risks,-concludes-expert-panel>