

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ INFECTIOUS DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.4

Опыт применения комплексного антигенного препарата чумного микроба для оценки выраженности специфического противочумного ответа

Дубровина В.И.¹, Корытов К.М.¹, Пятидесятникова А.Б.¹, Киселева Н.О.¹, Войткова В.В.¹, Брюхова Д.Д.¹, Николаев В.Б.¹, Половинкина В.С.¹, Салчак Л.К.², Щучинов Л.В.³, Балахонов С.В.¹

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия); ²Управление Роспотребнадзора по Республике Тыва (667010, г. Кызыл, ул. Калинина, 116, Россия); ³Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай (649002, г. Горно-Алтайск, Коммунистический просп., 173, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Обоснование. Совершенствование методологии иммунологического мониторинга в природных очагах чумы Российской Федерации и сопредельных территорий для повышения эффективности эпидемиологического надзора за чумой является актуальным направлением исследований. Отсутствие корреляции продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба с другими показателями состояния реактивности клеточной защиты указывает на необходимость поиска новых информативных и доступных маркеров оценки противочумного иммунитета.

Цель исследования: оценить возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и клеточных оболочек (КО) чумного микроба в антигенспецифических тестах *in vitro* у вакцинированных против чумы людей.

Методы. В исследовании приняли участие 153 добровольца, проживающих на энзоотичной по чуме территории (с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва и с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай). Исследование включало определение спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов (IFN- γ , IL-4, TNF- α) клетками крови, титров специфических антител IgG к капсульному антигену F1 чумного микроба и концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) в сыворотке крови, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19).

Результаты. Сравнительная оценка уровня цитокинов (TNF- α , IFN- γ и IL-4) в спонтанной/индуцированной F1 + КО *Y. pestis* пробах выявила статистически значимое повышение продукции цитокинов TNF- α и IFN- γ в индуцированных антигеном пробах по сравнению со спонтанными ($p < 0,01$).

Заключение. Таким образом, показана возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и КО чумного микроба для оценки продукции цитокинов в антигенспецифических клеточных тестах *in vitro*, что обосновывает необходимость дальнейших исследований.

Ключевые слова: антигены, лимфоциты, живая чумная вакцина, цитокины, иммунитет

Для цитирования: Дубровина В.И., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Киселева Н.О., Войткова В.В., Брюхова Д.Д., Николаев В.Б., Половинкина В.С., Салчак Л.К., Щучинов Л.В., Балахонов С.В. Опыт применения комплексного антигенного препарата чумного микроба для оценки выраженности специфического противочумного ответа. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 41-46. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.4.

Experience of Using a Complex Antigenic Preparation of the Plague Microbe to Assess the Severity of a Specific Anti-Plague Response

Dubrovina V.I.¹, Korytov K.M.¹, Petyatstnikova A.B.¹, Kiseleva N.O.¹, Voitkova V.V.¹, Bryukhova D.D.¹, Nikolaev V.B.¹, Polovinkina V.S.¹, Salchak L.K.², Shchuchinov L.V.³, Balakhonov S.V.¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78, 664047 Irkutsk, Russian Federation); ²Directorate of the Rospotrebnadzor for the Republic of Tyva (Kalinina str. 116, Kyzyl 667010, Russian Federation); ³Directorate of the Rospotrebnadzor for the Republic of Altai (Kommunisticheskii av. 173, Gorno-Altai 649002, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Background. Improving the methodology of immunological monitoring in natural foci of plague in the Russian Federation and adjacent territories to increase the effectiveness of epidemiological surveillance of plague is an urgent line of research. The lack of correlation between the production of specific antibodies to the capsular antigen (F1)

of the plague microbe with other indicators of the state of cellular defense reactivity indicates the need to search for new informative and accessible markers for assessing anti-plague immunity.

Objective: to evaluate possibility of using the complex preparation (F1 and cell membranes) evaluate the possibilities of using an artificial antigenic complex based on F1 and cell membranes (CM) of the plague microbe in antigen-specific tests *in vitro* in people vaccinated against plague.

Methods. The study involved 153 volunteers living in the territory enzootic for plague (the village of Khandagayty of the Ovyur kozhuun of the Tyva Republic and the village of Kosh-Agach of the Kosh-Agach district of the Altai Republic). The study included the determination of spontaneous and mitogen-induced production of cytokines (IFN- γ , IL-4, TNF- α) by blood cells, titers of specific IgG antibodies to the capsular antigen F1 of the plague microbe and concentrations of the main classes of immunoglobulins (IgM, IgG, IgA and IgE) in blood serum, as well as immunophenotyping of blood lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19).

Results. Comparative assessment of the level of cytokines (TNF- α , IFN- γ and IL-4) in spontaneous/induced F1+CM *Y. pestis* tests revealed a statistically significant increase in the production of cytokines TNF- α and IFN- γ in the antigen-induced tests compared with spontaneous ($p < 0.01$).

Conclusion. Thus, the effectiveness of the use of artificial antigenic complex based on F1 and cell membranes of the plague microbe has been shown to assess the production of cytokines in antigen-specific cell tests *in vitro*, which justifies the need for further research.

Key words: antigens, lymphocytes, live plague vaccine, cytokines, immunity

For citation: Dubrovina V.I., Korytov K.M., Petyatstnikova A.B., Kiseleva N.O., Voitkova V.V., Bryukhova D.D., Nikolaev V.B., Polovinkina V.S., Salchak L.K., Shchuchinov L.V., Balakhonov S.V. Experience of Using a Complex Antigenic Preparation of the Plague Microbe to Assess the Severity of a Specific Anti-Plague Response. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 41-46. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.4.

ВВЕДЕНИЕ

Чума остаётся одной из самых опасных инфекционных болезней. Современный период характеризуется повышением эпизоотической активности в ряде природных очагов чумы [1, 2, 3], возрастанием вероятности распространения инфекции на энзоотичной территории и риска диссеминации чумы за её пределы [4, 5]. Всё это обуславливает особое внимание к вопросам противодействия распространения и профилактики болезни.

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы, большинство из которых имеют трансграничный характер. В России для предотвращения угрозы распространения чумы на территории природных очагов инфекции разработан комплекс мер, включающий применение мероприятий по специфической и неспецифической профилактике этой опасной болезни. Вакцинацию применяют в случае риска заражения в природных очагах этой инфекции, в период регистрации локальных и разлитых эпизоотий и при проведении мероприятий по локализации и ликвидации эпидемических очагов. Для специфической профилактики чумы в России и в ряде стран СНГ используют живую вакцину (ВЧЖ) на основе аттенуированного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ (ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора).

В период с 2000 по 2018 г. эпизоотии чумы регистрировали в 5 из 11 природных очагов Российской Федерации [6]. В 2014 и 2016 гг. после длительного эпидемического благополучия были отмечены единичные случаи заболевания людей бубонной формой чумы. Заражения произошли на фоне эпизоотии в популяции серого сурка на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага [7, 8]. Экстраординарный случай заражения людей чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай послужил основанием для инициации масштабного исследования продолжительности и выраженности иммунологической перестройки в организме вакцинированных против чумы лиц с уточнением временных особенностей формирования реакций клеточного и гуморального ответов, получением объективных

данных о безопасности использования вакцины, в том числе в условиях ежегодной вакцинации [9, 10].

Доказанное в исследованиях отсутствие корреляции продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба с другими показателями состояния реактивности клеточной защиты ещё раз указывает на необходимость поиска новых информативных и доступных маркеров оценки противочумного иммунитета [11].

Таким образом, разработка и внедрение в практику новых подходов к оценке эффективности иммунопрофилактики чумы, основанных на применении антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* с использованием современного высокоточного аналитического оборудования, и широкая интеграция этих подходов в систему организации и проведения эпидемиологического надзора за чумой является актуальным направлением научных исследований.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и клеточных оболочек (КО) чумного микроба в антигенспецифических тестах *in vitro* у вакцинированных против чумы людей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках исследований по совершенствованию методологии иммунологического мониторинга в природных очагах чумы Российской Федерации и сопредельных территорий для повышения эффективности эпидемиологического надзора за чумой, приняли участие 153 добровольца (скрининговая группа без учёта пола, возраста), проживающих на энзоотичной по чуме территориях и неоднократно вакцинированных ЖЧВ, из которых 53 человека из с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва (группа 1) и 100 из с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай (группа 2). Критерием включения в исследование служили возраст не моложе 18 лет, срок с момента вакцинации/ревакцинации не более 6 месяцев, а также непосредственное проживание на энзоотичной по чуме территории.

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией

Всемирной медицинской ассоциации. Волонтеры дали письменное информированное согласие для участия в исследованиях. Протоколы утверждены локальным этическим комитетом ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора.

Исследование проводили согласно разработанным в РосНИПЧИ «Микроб» методическим рекомендациям «Оценка уровня иммунитета у лиц, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы» (Саратов, 2015 г.). Забор клинического материала (крови) проводили с помощью вакуумных систем для взятия крови (Vacutest Kima, Италия). Из крови выделяли сыворотку по стандартной методике. Для определения уровня продукции цитокинов кровь предварительно смешивали с питательной средой RPMI 1640, содержащей 100 мкг/мл гентамицина, в соотношении 1:4. В опытные пробы вносили по 100 мкл раствора экспериментального антигенного препарата, состоящего из капсульного антигена (F1) и клеточных оболочек (КО) *Yersinia pestis* в соотношении 1:1 по сухому веществу (F1 + КО) [12] в концентрации 20 мкг на пробу (индуцированная проба), а в контрольные – забуференный физиологический раствор (ЗФР, спонтанная проба), и инкубировали 24 часа при температуре 37 °С.

Количественное определение уровня цитокинов в спонтанной/индуцированной антигенным препаратом пробах и основных классов иммуноглобулинов оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (р. п. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкциям производителя. Концентрацию цитокинов выражали в пг/мл, а иммуноглобулинов – в мг/мл (классы М, G и А) и МЕ/мл (класс Е). Для оценки титра специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микроба использовали иммуноферментную тест-систему «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов). Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (BioTek Instruments Inc., США).

Фенотип лимфоцитов определяли с использованием сертифицированных моноклональных антител (МКАт, Becton Dickinson, США) в панели: CD3-PE-Cy7, CD4-PerCP, CD8-APC-Cy7, CD16-PE, CD19-FITC. Для чего готовили «коктейль» МКАт в соответствии с инструкцией производителя. В пробирку для цитофлуориметрического анализа добавляли 50 мкл крови с ЭДТА и 75 мкл коктейля МКАт, перемешивали на вортексе и инкубировали при 4 °С в темноте в течение 30 мин. Лизис эритроцитов проводили с помощью BD FACSTM Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Затем образцы

центрифугировали при 300 g в течение 5 мин с последующим двукратным отмыванием ЗФР. По завершении процесса отмывания клеток осаждённые лейкоциты ресуспендировали в 450 мкл ЗФР. Анализ окрашенных МКАт образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе анализировалось не менее 10 000 клеток. Для изучения клеточного звена определяли субпопуляции лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺), NK-клетки (CD3⁻CD16⁺) и В-лимфоциты (CD3⁻CD19⁺). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по формуле: CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ у.е.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическим критериям Манна – Уитни, так как сравниваемые выборки не соответствовали критериям нормальности, также отсутствовало равенство дисперсий. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25–Q75). При этом различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании сывороток крови добровольцев скрининговой группы специфические антитела к капсульному антигену F1 чумного микроба обнаружены только у 28,3 %. При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови установлено, что концентрация IgE варьировала в пределах референсных значений (табл. 1). Следует отметить, что у 27 добровольцев (17,6 % от общего числа) наблюдались высокие концентрации IgG, превышающие референсные значения (более 16 мг/мл) в среднем в 1,5 раза. Аналогичные изменения выявлены у 43 человек (28 %) в случае IgM и у 36 (23,5 %) – IgA.

В ходе предварительных исследований нами было показано, что экспериментальный препарат F1 + КО в дозах 6,3, 12,5 и 25 мкг способствует синтезу IL-8, IL-10 и TNF-α клетками крови человека ($p < 0,05$). Кроме того, этот препарат в дозе 25 мкг увеличивает продукцию IL-2 ($p = 0,03$). Также на примере клеток крови лабораторных животных была показана возможность применения F1 + КО в дозе 12,5 мкг для оценки выраженности специфического противочумного ответа [13].

Так, при оценке уровня цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-4) в спонтанной/индуцированной в дозе 20 мкг F1 + КО *Y. pestis* в пробах установлены статистически значимые различия (рис. 1), которые выявили повышение продукции цитокинов TNF-α (67,4 раза) и IFN-γ (15,3 раза)

Основные классы иммуноглобулинов, Me (Q25–Q75)

Таблица 1

Main classes of immunoglobulins, Me (Q25 – Q75)

Table 1

Показатель	Исследуемая группа добровольцев	Референсные значения
IgE общ. (МЕ/мл)	15,0 (5,0–40,0)	0–100
IgM (мг/мл)	1,9 (1,0–4,0)	0,4–2,3
IgG (мг/мл)	10,3 (7,0–18,6)	7,0–16,0
IgA (мг/мл)	3,3 (1,5–5,7)	0,7–4,0

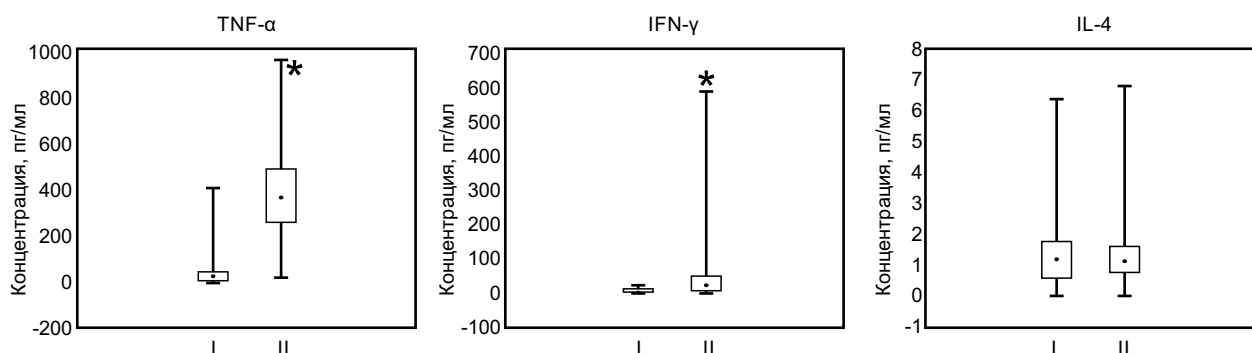


Рис. 1. Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-4) у людей, вакцинированных ЖЧВ, Ме (Q25–Q75): I – спонтанная продукция цитокина; II – индуцированная препаратом капсульного антигена и клеточных оболочек *Y. pestis* в дозе 20 мкг на пробу; * – статистически значимо по сравнению со спонтанной продукцией цитокина ($p < 0,01$)

Fig. 1. Spontaneous and induced cytokine production (TNF-α, IFN-γ, and IL-4) in humans vaccinated with HPV, Me (Q25–Q75): I – spontaneous cytokine production; II – induced by the preparation of the capsular antigen and cell membranes of *Y. pestis* at a dose of 20 μg per sample; * – statistically significant in comparison with spontaneous cytokine production ($p < 0.01$)

Таблица 2

Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови людей, вакцинированных ВЧЖ, Ме (Q25–Q75)

Table 2

Dynamics of the content of natural killer cells, T- and B-lymphocytes in the blood of people vaccinated with LPV, Me (Q25–Q75)

Показатель, %	Референсные значения	Группа 1	Группа 2
CD3 ⁺	58–76	70,8 (64,1–74,1)	75,8 (71,6–79,2)*
CD3 ⁺ CD8 ⁺	17–37	23,9 (19,6–29,2)	25,5 (22,0–29,9)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	35–55	39,4 (33,7–42,3)	42,5 (39,3–45,7)**
CD3 ⁺ CD16 ⁺	6–26	14,2 (10,6–16,6)	11,3 (9,1–16,2)
CD19 ⁺	8–19	9,1 (7,3–11,2)	9,4 (8,0–11,5)

Примечание. * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$ – уровни статистической значимости по отношению к значениям показателя добровольцев группы 1.

в индуцированных антигеном пробах по сравнению со спонтанными ($p < 0,01$). Концентрация IL-4 под влиянием F1+КО статистически значимо не изменилась.

В ходе изучения клеточного состава крови людей, проживающих на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов чумы, было показано, что содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций (Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты), НК-клеток и В-лимфоцитов находилось в пределах физиологической нормы. В то же время у людей, проживающих в с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай (группа 2), выявлены статистически значимо более высокие показатели процентного содержания CD3⁺- и CD3⁺CD4⁺-клеток по сравнению с добровольцами из с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва (табл. 2).

Показано, что ИРИ у добровольцев группы 1 составил 1,6 (1,2–2,0), а у группы 2 – 1,7 (1,3–2,1). Важно отметить, что показатели ИРИ у всех добровольцев не превышал референсных значений (показатели были в пределах от 1,0 до 2,6).

Таким образом, показана возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и КО чумного микроба в антигенспецифических клеточных тестах *in vitro* по количественному определению концентрации биомаркерных цитокинов лимфоцитами крови условно здоровых и неоднократно вакцинированных ВЧЖ людей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе исследований данные позволяют рассматривать предложенный антиген как перспектив-

ный для оценки эффективности иммунопрофилактики чумы в антигенспецифических клеточных тестах *in vitro*, что обосновывает необходимость дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aikimbayev AM, Bekenov JY, Meka-Mechenko TV, Temiraliyeva GA. The epidemiological surveillance of highly pathogenic diseases in Kazakhstan. *Emerging and Endemic Pathogens. NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology*. 2010; 00: 15–20. doi: 10.1007/978-90-481-9637-1_2
2. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержущий Д.Б., Вершинин С.А. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (1): 50–55. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55
3. Sariyeva G, Abdel Z, Shabunin A, Sagiyev Z, Abdikarimov S, Bazarkanova G, et al. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: Epizootic activity and marmot population. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2018; 18(10): 524–532. doi: 10.1089/vbz.2017.2200
4. Li B, Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infect Immun*. 2008; 76(5): 1804–1181. doi: 10.1128/IAI.01517-07
5. Hammamieh R, Muhie S, Borschel R, Gautam A, Miller S-A, Chakraborty N, et al. Temporal progression of pneumonic plague in blood of nonhuman primate: A transcriptomic analysis. *PLoS ONE*. 2016; 11(3): e0151788. doi: 10.1371/journal.pone.0151788
6. Попов Н.В., Карнаузов И.Г., Пакскина Н.Д., Ерошенко Г.А., Кузнецов А.А., Матросов А.Н. и др. Оценка современной эпи-

демиологической обстановки в природных очагах чумы мира. Повышение эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (1): 81-88. doi: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88

7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В. и др. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (4): 9-16. doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16

8. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Балахонов С.В., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д. 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. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10

9. Кoryтов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Носков А.К., Мищенко А.И., Балахонов С.В. Оценка иммунологической эффективности вакцинации против чумы в активном природном очаге. Сообщение 1. Цитокинный и иммуноглобулиновый статус. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(2): 45-48. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-45-48

10. Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л., Кудрявцева О.М., Санджиев Д.Н. и др. Комплексный анализ корреляционных взаимосвязей между показателями гуморального и клеточного иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(1): 135-141. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-135-146

11. Кoryтов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Носков А.К., Глушков Э.А. и др. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. *Acta Biomedica Scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

12. Николаев В.Б., Иванова Т.А., Половинкина В.С., Саппо С.Г., Попова Ю.О., Марков Е.Ю., Голубинский Е.П. *Способ получения иммуногенного препарата из Yersinia pestis EV*: Пат. № 2248217; МПК А61К 39/02 (2000.01), С12Р 21/00 (2000.01). Заявл. 20.11.2004; опубл. 20.03.2005. № 2003115185/13.

13. Половинкина В.С., Войткова В.В., Николаев В.Б., Дубровина В.И., Марков Е.Ю. Исследование диагностической значимости субклеточных фракций чумного микроба для оценки выраженности иммунного ответа. *Медицина труда и экология человека*. 2019; 4(20): 34-38. doi: 10.24411/2411-3794-2019-10045

REFERENCES

1. Aikimbayev AM, Bekenov JY, Meka-Mechenko TV, Temiraliyeva GA. The epidemiological surveillance of highly pathogenic diseases in Kazakhstan. In: O'Connell K, Skowronski E, Sulakvelidze A, Bakanidze L. (eds) Emerging and Endemic Pathogens. *NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology*. 2010; 00: 15-20. doi: 10.1007/978-90-481-9637-1_2

2. Popov NV, Kuznetsov AA, Matrosov AN, Korzun VM, Verzhutsky DB, Vershinin SA, et al. Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008–2017 and forecast for 2018.

Problems of Particularly Dangerous Infections. 2018; (1): 50-55. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55

3. Sariyeva G, Abdel Z, Shabunin A, Sagiyev Z, Abdikarimov S, Bazarkanova G, et al. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: Epizootic activity and marmot population. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2018; 18(10): 524-532. doi: 10.1089/vbz.2017.2200

4. Li B, Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infection and Immunity*. 2008; 76(5): 1804-1181. doi: 10.1128/IAI.01517-07

5. Hammamieh R, Muhie S, Borschel R, Gautam A, Miller S-A, Chakraborty N, et al. Temporal progression of pneumonic plague in blood of nonhuman primate: A transcriptomic analysis. *PLoS ONE*. 2016; 11(3): e0151788. doi: 10.1371/journal.pone.0151788

6. Popov NV, Karnaukhov IG, Pakschina ND, Eroshenko GA, Kuznetsov AA, Matrosov AN, et al. Analysis of the current epidemiological situation in natural plague foci around the world. Enhancement of the effectiveness of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of their epizootic activity for 2019. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019; (1): 81-88. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88

7. Kutyrev VV, Popova AY, Ezhlova EB, Demina YV, Pakschina ND, Shchuchinov LV, et al. Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Report 1. Epidemiological and epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; (4): 9-16. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16

8. Popova AY, Kutyrev VV, Balakhonov SV, Ezhlova EB, Demina YV, Pakschina ND, 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 Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10

9. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, Noskov AK, Mishchenko AI, Balakhonov SV. Immunological efficiency of plague vaccination in the active natural focus. Report 1. Cytokine and immunoglobulin status. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017; 16(2): 45-48. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-45-48

10. Klyueva SN, Bugorkova SA, Goncharova AY, Kravtsov AL, Kudryavtseva OM, Sandzhiev DN, et al. Comprehensive analysis of the correlations between the indices of humoral and cellular immunity in individuals vaccinated against plague. *Infection and immunity*. 2019; 9(1): 135-141. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-135-146

11. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, Pyatidesyatnikova AB, Noskov AK, Glushkov EA, et al. Efficiency of human plague vaccination in Tuvian natural plague focus. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

12. Markov EYu, Golubinsky EP, Sappo SG, Nikolaev VB, Polovinkina VS, Popova YuO, Ivanova TA. *Method of obtaining an immunogenic preparation from Yersinia pestis EV*: Patent of the Russian Federation N 2248217. (In Russ.)

13. Polovinkina VS, Voitkova VV, Nikolaev VB, Dubrovina VI, Markov EYu. Investigation of the diagnostic significance of the subcellular fractions of the plague microbe to assess the severity of the immune response. *Occupational health and human ecology*. 2019; 4(20): 34-38. (In Russ.). doi: 10.24411/2411-3794-2019-10045

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Киселева Наталья Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: nata13026@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6678-2998>

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Брюхова Дарья Дмитриевна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5589-9522>

Николаев Валерий Борисович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Половинкина Валерия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4706-4186>

Салчак Людмила Кимовна – руководитель, Управление Роспотребнадзора по Республике Тыва, e-mail: mail@17.rospotrebnadzor.ru

Щучинов Леонид Васильевич – руководитель, Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, e-mail: rpn_ra@mail.gorny.ru

Балахонov Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: dubrovinavalya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Konstantin M. Korytov – Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Natalia O. Kiseleva – Laboratory Assistant-Researcher, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: nata13026@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6678-2998>

Valentina V. Voitkova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Daria D. Briukhova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: darabrukho@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5589-9522>

Lyudmila K. Salchak – Head, Directorate of the Rosпотребнадзор for the Republic of Tyva, e-mail: mail@17.rospotrebnadzor.ru

Leonid V. Shchuchinov – Head, Directorate of the Rosпотребнадзор for the Altai Republic, e-mail: rpn_ra@mail.gorny.ru

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Вклад авторов

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Корытов К.М. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, оформление статьи.

Пятидесятникова А.Б. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Киселева Н.О. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Войткова В.В. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, оформление статьи.

Брюхова Д.Д. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Николаев В.Б. – получение и характеристика антигена, анализ результатов, оформление статьи.

Половинкина В.С. – получение и характеристика антигена, анализ результатов, оформление статьи.

Салчак Л.К. – организация забора материала для исследования.

Щучинов Л.В. – организация забора материала для исследования.

Балахонov С.В. – планирование научной темы, оформление статьи.

Статья получена: 24.02.2021. Статья принята: 19.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.

Received: 24.02.2021. Accepted: 19.04.2021. Published: 15.06.2021.