

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ТЕСТОВ *IN VITRO* ДЛЯ ОЦЕНКИ ФОРМИРОВАНИЯ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИММУНИТЕТА

А.Н. Куличенко, Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, Е.Л. Ракитина, Д.Г. Пономаренко, М.В. Костюченко

ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

**Резюме.** Изучена возможность оценки поствакцинального противочумного иммунитета с использованием антиген-стимулированных клеточных тестов *in vitro* и цитометрического анализа. Объект исследования — образцы крови 17 человек, иммунизированных подкожно вакциной чумной живой из штамма *Yersinia pestis* EV. Взятие крови осуществляли: до вакцинации и после иммунизации на 7 и 21 сутки, через 3 и 6 месяцев. Интенсивность антиген-реактивности лимфоцитов выявляли в клеточных тестах *in vitro*, анализируя маркеры ранней (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) и поздней (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) активации лимфоцитов с использованием проточной цитофлуориметрии. В качестве антигенов испытывали комплекс водорастворимых антигенов чумного микроба и аллерген — пестин ПП. Установлен высокий стимулирующий потенциал у комплекса водорастворимых антигенов *Y. pestis*. Показано, что коэффициент стимуляции относительного содержания Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы к IL-2, после вакцинации во все сроки наблюдения был положительный, при этом наибольших значений он достигал на 21 сутки (56,37%) и через 3 месяца (47,41%). При выявлении HLA-DR-позитивных лимфоцитов до вакцинации, на 7 и 21 сутки отмечается отрицательный коэффициент стимуляции, через 3 и 6 месяцев коэффициент стимуляции был положительный. Анализ динамики интенсивности экспрессии маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов показал возможность и перспективу применения клеточных тестов *in vitro* для лабораторной оценки специфической реактивности клеточного иммунитета как на ранних (7 суток), так и поздних (6 месяцев) сроках после вакцинации. Полученные результаты могут быть основанием для разработки нового алгоритма оценки иммунологической эффективности вакцинации контингентов против чумы, основанного на выявлении маркеров активации лимфоцитов при стимуляции антигеном в условиях *in vitro*.

**Ключевые слова:** специфическая профилактика чумы, клеточный иммунитет, оценка эффективности вакцинации, маркеры активации лимфоцитов, антигены *Yersinia pestis*, коэффициент стимуляции.

## THE ANTIGEN-SPECIFIC CELL *IN VITRO* TESTS FOR POST-VACCINATION ANTIPLAGUE IMMUNITY FORMATION

Kulichenko A.N., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Kostuchenko M.V.

Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

**Abstract.** The possibility of post-vaccination anti-plague immunity evaluation was researched using antigen-stimulated cells tests *in vitro* and cytometry analysis. The object of study — the blood samples of 17 people immunised by the live

### Адрес для переписки:

Гостищева Светлана Евгеньевна  
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13–15,  
ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский  
противочумный институт Роспотребнадзора.  
Тел./факс: +7 (8652) 26-20-50 (служебн.).  
E-mail: snipchi@mail.stv.ru

### Contacts:

Svetlana E. Gostischeva  
355035, Russian Federation, Stavropol, Sovetskaya str., 13–15,  
Stavropol Plague Control Research Institute.  
Phone/fax: +7 (8652) 26-20-50 (office).  
E-mail: snipchi@mail.stv.ru

### Библиографическое описание:

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. Т. 7, № 2. С. 203–208. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-203-208

### Citation:

Kulichenko A.N., Abzaeva N.V., Gostischeva S.E., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Kostuchenko M.V. Using the antigen-specific cell *in vitro* tests to assess the formation of post-vaccination immunity antiplague // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 203–208. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-203-208

plague vaccine (*Yersinia pestis* EV) epicutaneously. Blood taking was carried out before vaccination and after immunisation on 7 and on 21 days, in 3 and in 6 months. Intensity antigen reactivity of lymphocytes was detected by cell tests *in vitro*, analysing markers of early (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) and late (CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>) lymphocyte activation using flow cytometry. The complex of water-soluble *Y. pestis* antigens and allergen — pestin PP was tested as antigen. The high stimulating potential was defined of the water-soluble antigens *Y. pestis* complex. It is shown that coefficient of stimulation of relative level T- lymphocytes which express receptors for IL-2 was positive for all observation times after immunisation. The coefficient of stimulation had maximum values at 21 days (56.37%) and at 3 (47.41%) months. In identifying HLA-DR-positive lymphocytes before vaccination, the negative coefficient of stimulation was indicated on 7 and 21 days and the positive coefficient of stimulation was indicated at 3 and at 6 months. Analysis of intensity expression of early and late lymphocyte activation markers dynamics showed the possibility and prospect of application of cellular *in vitro* tests for the laboratory evaluation of specific reactivity of cellular immunity in both the early (7 days) and late (6 months) periods after vaccination. The results can be the basis for developing a new algorithm for assessment of immunological effectiveness of vaccination people against plague. It is the algorithm based on the identification of lymphocyte activation markers by antigen stimulation in conditions *in vitro*.

**Key words:** specific plague prevention, cellular immunity, evaluation of the effectiveness of vaccination, lymphocyte activation markers, *Yersinia pestis* antigens, stimulating coefficient.

В последние годы в Российской Федерации сохраняется нестабильная эпизоотологическая ситуация в природных очагах чумы, при этом наиболее сложная эпидемиологическая обстановка сложилась на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, где в 2014, 2015 и 2016 гг. зарегистрированы случаи заболевания чумой человека. Заболевший чумой в августе 2015 г. человек был привит против чумы (в апреле 2015 г.) [2, 8, 10]. Данный факт актуализирует проблему оценки иммунологической и эпидемиологической эффективности мероприятий по специфической профилактике чумы, важнейший аспект которой — определение сроков формирования и сохранения поствакцинального иммунитета у вакцинированного контингента. Нормативная база федерального уровня, регламентирующая оценку уровня противочумного иммунитета у людей, к настоящему времени отсутствует.

В лабораторной практике используется метод определения эффективности иммунизации против чумы по показателям поствакцинальных титров антител к F1 чумного микроба. Однако имеются данные, что лишь у 35–80% иммунизированного против чумы контингента формируется поствакцинальная сероконверсия [7].

Учитывая ведущую роль клеточного иммунитета в образовании и реализации противочумного иммунитета, серологические реакции только косвенно могут указывать на наличие или отсутствие специфической резистентности организма к чуме [2, 11, 12, 13].

В 70–80-е гг. прошлого столетия было установлено, что кожно-аллергическая реакция на антигены чумного микроба может служить объективным показателем развития иммунитета организма к инфекции. Кожный аллергологический тест опосредован реакцией гиперчувствительности замедленного типа, реализуемой CD4<sup>+</sup> лимфоцитами 1-го типа и их цитокинами, соответственно он отражает специфическую активность клеточного иммунитета [3, 5, 6, 13].

Несмотря на достаточно высокую специфичность (более 90%) кожно-аллергических реакций для определения поствакцинального иммунитета к чуме, тесты *in vivo* широкого внедрения так и не получили. Основной причиной этого стал высокий риск формирования общих и местных побочных реакций на парентеральное введение аллергена.

Бесперспективность инвазивных методов оценки клеточного противочумного иммунитета определила актуальность дальнейших исследований, которые были направлены на поиск информативных иммунологических маркеров, позволяющих *in vitro* определить их наличие и уровень активности. С этой целью для исследования поствакцинального противочумного иммунитета был рекомендован тест повреждения нейтрофилов (ППН), основу которого составляла оценка амебоидной активности и повреждаемости нейтрофилов крови сенсibilизированных лиц после взаимодействия со специфическим аллергеном. Предпринимались попытки выявлять противочумный иммунитет в реакции дегрануляции гранулоцитов под влиянием аллергена чумного микроба (микробного пестина). Для определения антигенреактивности сенсibilизированных лимфоцитов также использовали показатели пролиферативной, цитокинпродуцирующей активности, экспрессии активационных молекул при контакте с основными антигенами *Yersinia pestis* (капсульный антиген, мышинный токсин, ЛПС, ОСА, пестин) [4, 7, 11].

Несмотря на многочисленные исследования в данной области, метод количественной оценки клеточного противочумного иммунитета, который бы четко коррелировал с формированием специфического иммунитета к возбудителю чумы, так и не предложен.

Таким образом, совершенствование методов лабораторной оценки эффективности специфической профилактики чумы — актуальная задача, решение которой позволит разработать

эффективный инструмент иммунологического мониторинга контингентов профессионального риска, подлежащих вакцинации.

Цель исследований — изучение возможности оценки поствакцинального противочумного иммунитета с использованием антиген-стимулированных клеточных тестов *in vitro* и технологии цитометрического анализа.

## Материалы и методы

Объект исследования — образцы крови 17 человек, иммунизированных подкожно вакциной чумной живой из штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Обследуемый контингент подлежал ежегодной иммунизации против чумы по эпидемическим показаниям. Взятие крови осуществляли в следующие сроки: до вакцинации, на 7 и 21 сутки, через 3 и 6 месяцев (срок наблюдения) после иммунизации.

Интенсивность антигенреактивности лимфоцитов выявляли в клеточных тестах *in vitro*, анализируя маркеры ранней ( $CD45^+CD3^+CD25^+$ ) и поздней ( $CD45^+CD3^+HLA-DR^+$ ) активации лимфоцитов с использованием конъюгированных с флуорохромами моноклональных антител (Beckman Coulter, США).

Коэффициент стимуляции (КС) рассчитывали по формуле [4]:  $КС = (C-D)/C \times 100$ , где КС — коэффициент стимуляции лимфоцитов в условиях *in vitro* (в %); С — относительный (абсолютный) уровень содержания в крови популяций (субпопуляций) лимфоцитов в опытной пробе; D — относительный (абсолютный) уровень в крови популяций (субпопуляций) лимфоцитов в контрольной пробе.

В качестве антигенов использовали комплекс водорастворимых антигенов чумного микроба (ВрАг), приготовленный по методике Е.Н. Афанасьева [1] и аллерген — пестин ПП, полученный по методу, предложенному Т.М. Тараненко [9]. В контрольной пробе с целью выявления возможной спонтанной активации лимфоцитов, клетки обрабатывали стерильным 0,9% изотоническим раствором натрия хлорида.

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Антиген CD25 — высокоаффинный рецептор интерлейкина 2 (IL-2R $\alpha$ ), который экспрессируется активированными Т-лимфоцитами, в меньшей степени В-клетками. Наличие на поверхности лимфоцитов CD25 указывает на их раннюю

активацию, основная часть не активированных Т-клеток иммунологической памяти у человека конститутивно экспрессирует CD25.

Анализ количества CD25-позитивных лимфоцитов у обследуемых до вакцинации, вне зависимости от применяемого антигена, свидетельствовал об отсутствии статистически достоверной разницы значений показателя в группах сравнения. Так, при инкубации с 0,9% раствором натрия хлорида количество  $CD45^+CD3^+CD25^+$  лимфоцитов в среднем составило —  $12,12 \pm 1,22\%$ , при *in vitro* активации ВрАг вакцинного штамма *Y. pestis* EV —  $14,15 \pm 1,04\%$ , при стимуляции пестином —  $14,90 \pm 0,97\%$ .

Во все периоды обследования спонтанной активации лимфоцитов не зафиксировано. Количество лимфоцитов, экспрессирующих маркеры ранней активации при воздействии 0,9% раствором натрия хлорида на 7, 21 сутки через 3 и 6 месяцев после иммунизации в среднем фоновый уровень составил  $12,94 \pm 1,58\%$ .

При активации клеток ВрАг уже на 7 сутки отмечается статистически достоверное повышение (на 46,7%) интенсивности экспрессии лимфоцитами рецептора к IL-2R $\alpha$  (CD25) до  $19,39 \pm 2,19\%$  ( $p \leq 0,05$ ). К 21 суткам исследуемый показатель имел двукратное увеличение, по сравнению с значением до вакцинации, составив в среднем  $27,92 \pm 1,82\%$  ( $p \leq 0,05$ ). Через 3 и 6 месяцев после введения вакцины наблюдалась тенденция к снижению количества CD25-позитивных лимфоцитов относительно предыдущего срока обследования, в среднем до  $24,30 \pm 1,88\%$  и  $22,72 \pm 2,75\%$  ( $p \leq 0,05$ ), при этом количество специфически активированных лимфоцитов в сравнении с контрольными данными остается выше на 90,1 и 66,4% соответственно.

Анализ применения аллергена пестина для специфической активации лимфоцитов в условиях *in vitro* показал, что во все периоды исследования — на 7, 21 сутки и через 3 и 6 месяцев после иммунизации количество  $CD45^+CD3^+CD25^+$  лимфоцитов не имело статистически значимой разницы в сравнении с аналогичными данными контроля, составив в среднем  $16,60 \pm 0,78$ ,  $11,96 \pm 1,57$ ,  $14,23 \pm 1,21$  и  $13,15 \pm 1,64\%$  соответственно (табл. 1).

По данным современной литературы, экспрессия лимфоцитами антигена DR главного комплекса гистосовместимости II класса ассоциирована с поздней и длительной активацией лимфоцитов. HLA-DR $^+$  лимфоциты длительно циркулируют в кровотоке, отражая активированное состояние иммунной системы.

Интенсивность экспрессии HLA-DR лимфоцитами у обследуемых до вакцинации при инкубации с изотоническим раствором и стимуляции специфическими антигенами *Y. pestis* составила: 0,9% раствором натрия хлорида —  $23,02 \pm 2,48\%$ , ВрАг —  $22,44 \pm 2,31\%$ , пестином —  $20,36 \pm 1,86\%$ , при этом количественные различия статистически не значимы.

**Таблица 1. Количество специфически активированных Т-лимфоцитов (CD25<sup>+</sup>), %**Table 1. Quantity of specifically activated T-lymphocytes (CD25<sup>+</sup>), %

Сроки обследования Terms of inspection	Стимулирующий антиген Stimulating antigen		Контроль (0,9% р-р NaCl) Control (0,9% solution of NaCl)
	ВрАг WsAg	Пестин Pestis	
До вакцинации Before vaccination	14,15±1,04	14,90±0,97	12,12±1,22
Через 7 сут после вакцинации 7 days after vaccination	19,39±2,19	16,60±0,78	13,18±1,47
Через 21 сут после вакцинации 21 days after vaccination	27,92±1,82	11,96±1,57	12,18±1,38
Через 3 мес после вакцинации 3 months after vaccination	24,30±1,88	14,23±1,21	12,78±1,10
Через 6 мес после вакцинации 6 months after vaccination	22,72±2,75	13,15±1,64	13,64±1,72

Во все сроки исследования спонтанного усиления экспрессии лимфоцитами антигена DR не установлено. На 7, 21 сутки и через 3 и 6 месяцев после иммунизации количество HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов после инкубации с 0,9% раствором натрия хлорида (контроль) составило 16,99±0,91, 29,05±2,81, 27,32±2,98 и 16,50±1,63% соответственно.

При активации лимфоцитов *in vitro* ВрАг на 7, 21 сутки и через 3 месяца после вакцинации не выявлено статистически значимой разницы в значениях интенсивности экспрессии маркера поздней активации в сравнении с контролем. Так, на 7 сутки количество HLA-DR<sup>+</sup> лимфоцитов составило в среднем 15,82±1,35%, на 21 сутки — 28,45±1,92%, а через 3 месяца — 27,81±2,56%. Однако при обследовании вакцинированных через 6 месяцев после иммунизации установлено достоверное повышение интенсивности экспрессии антигена DR на 42,1% составившее в среднем 23,45±2,71% ( $p < 0,05$ ), при этом у двух вакцинированных (11,8%) этот показатель был выше контрольных значений в 2 раза.

При анализе интенсивности экспрессии рецептора HLA-DR лимфоцитами при стимуляции пестином статистически достоверных различий по сравнению с контрольными значениями во все сроки обследования не выявлено (табл. 2).

Анализ стимулирующего потенциала комплекса водорастворимых антигенов *Y. pestis* относительно активации сенсibilизированных лимфоцитов в условиях *in vitro* показал, что коэффициент стимуляции относительного содержания лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> во все сроки наблюдения был положительный, при этом наибольших значений он достигал на 21 сутки (56,37%) и через 3 месяца (47,41%) после иммунизации. При выявлении CD45<sup>+</sup>CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> клеток до вакцинации, на 7 и 21 сутки отмечаются отрицательные коэффициенты стимуляции, затем через 3 и 6 месяцев коэффициент стимуляции становится положительным (рис.).

Таким образом, наибольшим стимулирующим потенциалом *in vitro* в отношении иммунных лимфоцитов обладает комплекс водорас-

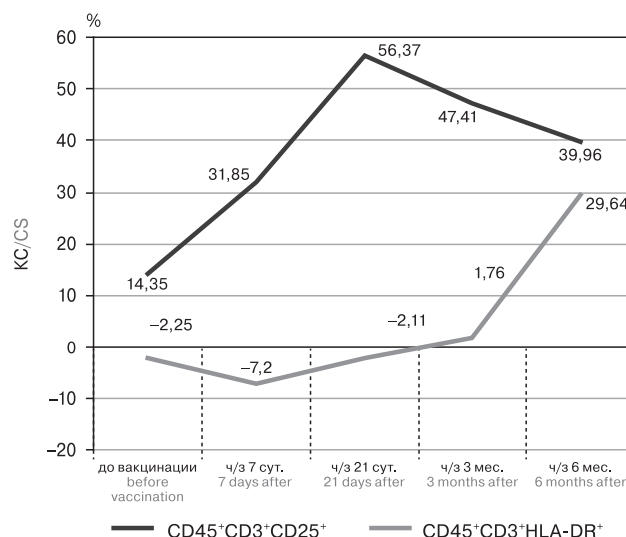
**Таблица 2. Количество специфически активированных Т-лимфоцитов (HLA-DR<sup>+</sup>), %**Table 2. Number of specifically activated T-lymphocytes (HLA-DR<sup>+</sup>), %

Сроки обследования Terms of inspection	Стимулирующий антиген Stimulating antigen		Контроль (0,9% р-р NaCl) Control (0,9% solution of NaCl)
	ВрАг WsAg	Пестин Pestis	
До вакцинации Before vaccination	22,44±2,31	20,36±1,86	23,02±2,48
Через 7 сут после вакцинации 7 days after vaccination	15,82±1,35	18,88±4,31	16,99±0,91
Через 21 сут после вакцинации 21 days after vaccination	28,45±1,92	31,01±2,81	29,05±2,81
Через 3 мес после вакцинации 3 months after vaccination	27,81±2,56	30,44±3,11	27,32±2,98
Через 6 мес после вакцинации 6 months after vaccination	23,45±2,71	15,60±1,81	16,50±1,63

творимых антигенов *Y. pestis*, при этом максимум клеточной антигенспецифической активности (по маркеру CD25) приходится на 21 сутки после введения вакцины.

Динамика интенсивности экспрессии маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов показала возможность и перспективу применения описанного методического подхода для лабораторной оценки формирования поствакцинального иммунитета (или фактической привитости) у вакцинированных на ранних (7 суток) и поздних (6 месяцев) сроках после вакцинации. При этом наиболее информативным показателем активности клеточного адаптивного иммунитета против возбудителя чумы можно считать антиген-стимулированную экспрессию Т-лимфоцитами маркера CD25 (рецептор к IL-2).

С учетом ключевой роли клеточного иммунитета при чуме, использование антиген-стимулированных клеточных тестов *in vitro* и технологии цитометрического анализа открывает возможность количественно определять поствакцинальную специфическую антигенреактивность лимфоцитов в отношении *Y. pestis*. Полученные результаты могут быть основанием для разработки нового метода количественной оценки иммунологической эффективности вакцинации против чумы по эпидемиологическим показаниям, основанного на выявлении маркеров активации лимфоцитов при стимуляции специфическим антигеном.



**Рисунок. Динамика значений КС лимфоцитов крови людей, вакцинированных против чумы, при *in vitro* активации WsAg**

Figure. Blood lymphocytes CS values dynamics in vaccinated against plague patients, with *in vitro* activation of WsAg

В плане продолжения исследований — определение динамики изменения изученных показателей и коэффициента стимуляции в более поздние сроки (до 1 года).

## Список литературы/References

- Афанасьев Е.Н., Таран И.Ф., Тюменцева И.С. Антигенная структура бруцелл. Сообщение I. Сравнительная оценка методов выделения водорастворимых антигенов бруцелл. Ставрополь, 1986. 16 с. [Afanasiev E.N., Taran I.F., Tyumentseva I.S. Antigenная структура brutsell. Soobshchenie I. Sravnitel'naya otsenka metodov vydeleniya vodorastvorimyykh antigenov brutsell [Antigenic structure of Brucella. Report I. Comparative evaluation of methods for the isolation of Brucella water-soluble antigens]. *Stavropol*, 1986. 16 p.]
- Балахонov С.В. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение I. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 1. С. 55–60. [Balakhonov S.V. The case of human plague in Kosh-Agach district of the Altai Republic in 2015. Report I. Clinical, epidemiological and epizootological aspects. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016. no. 1, pp. 55–60. (In Russ.)]
- Белобородов Р.А., Тараненко Т.М., Бахрах Е.Э., Муравьева Н.К., Дудкова В.К. Эффективность компонентов пестина ПП при определении корреляции аллергической реактивности и приобретенной резистентности к чуме // Проблемы особо опасных инфекций. 1974. № 6 (40). С. 51–54. [Beloborodov R.A., Taranenko T.M., Bachrach E.E., Muravieva N.K., Dudkova V.K. Efficiency pestina PP components in determining the correlation of allergic reactivity and acquired resistance to the plague. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 1974, no. 6 (40), pp. 51–54. (In Russ.)]
- Богачева Н.В., Крючков А.В., Дармов И.В., Воробьев К.А., Печенкин Д.В., Елагин Г.Д., Колесников Д.П. Экспериментальная оценка методом проточной цитофлуорометрии уровня клеточной иммунологической памяти у лиц, вакцинированных против чумы и сибирской язвы // Клиническая лабораторная диагностика. 2013. № 11. С. 48–53. [Bogacheva N.V., Kryuchkov A.V., Darmov I.V., Vorobiev K.A., Petchenkin D.V., Elagin G.D., Kolesnikov D.P. Experimental evaluation using flow cytofluorometry level cell immunological memory in individuals vaccinated against plague and anthrax. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*, 2013, no. 11, pp. 48–53. (In Russ.)]
- Коробкова Е.И. Живая противочумная вакцина. М.: Медгиз, 1956. 205 с. [Korobkova E.I. Zhivaya protivochumnaya vaksina [Live plague vaccine]. M.: Medgiz, 1956. 205 p.]
- Кравцов А.Л., Шмелькова Т.П., Шуковская Т.Н. Влияние противочумной вакцинации на функциональную активность клеток врожденного иммунитета человека // Проблемы особо опасных инфекций. 2011. № 107. С. 77–80. [Kravtsov A.L., Shmelkova T.P., Schukovskaya T.N. Effect of anti-plague vaccination in the functional activity of the human innate immune cells. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2011, no. 107, pp. 77–80. (In Russ.)]
- 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. Т. 12, № 3. С. 85–87. [Lyapina A.M., Fedorova V.A., Khizhnyakova M.A., Telepnev M.V., Motin V.L. Recombinant polypeptide biomarkers assess immunological effectiveness of vaccination of live plague vaccine in humans. *Meditsinskii akademicheskii zhurnal = Medical Academic Journal*, 2012, vol. 12, no. 3, pp. 85–87. (In Russ.)]
8. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Балахонов С.В., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Попов Н.В., Косилко С.А., Дубровина В.И., Корзунов В.М., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Бугоркова С.А., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Топорков В.П., Лудский А.А., Раздорский А.С., Матросов А.Н., Поршаков А.М., Лопатин А.А., Щербакова С.А. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 4. С. 5–10. [Popova A.Yu., Kutuyev V.V., Balakhonov S.V., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakschina N.D., Shchuchinov L.V., Popov N.V., Kosilko S.A., Dubrovina V.I., Korzunov V.M., Mikhailov E.P., Mishchenkova A.I., Denisov A.V., Rozhdestvenskii E.N., Bugorkova S.A., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Toporkov V.P., Ludskii A.A., Razdorskii A.S., Matrosov A.N., Porshakov A.M., Lopatin A.A., Shcherbakova S.A. Coordination of measures of plague control institutions, aimed at rehabilitation and sanitation of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2016. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016, no. 4, pp. 5–10. (In Russ.)]
  9. Тараненко Т.М. Изучение химического состава аллергена пестина ПП. Исследование пестина методом электрофореза // Проблемы особо опасных инфекций. 1968. № 2. С. 154–157. [Taranenko T.M. Study of the chemical composition of the allergen Pestin PP. Pestin study by electrophoresis. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 1968, no. 2, pp. 154–157. (In Russ.)]
  10. Фирстова В.В., Бахтеева И.В., Титарева Г.М., Зырина Е.В., Иванов С.А., Киселева Н.В., Копылов П.Х., Анисимов А.П., Дятлов И.А. Определение экспрессии маркера ранней активации CD69 на лимфоцитах иммунных мышей после стимуляции их антигенами чумного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. 2010. № 103. С. 56–59. [Firstova V.V., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Zyryina E.V., Ivanov S.A., Kiseleva N.V., Kopylov P.Kh., Anisimov A.P., Dyatlov I.A. Determination of CD69 expression of the early activation marker on the lymphocytes of the immune mice after stimulation with antigens of plague microbe. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2010, no. 103, pp. 56–59. (In Russ.)]
  11. Do Y., Didierlaurent A.M., Ryu S., Koh H., Park C.G., Park S., Perlin D.S., Powell B.S., Steinman R.M. Induction of pulmonary mucosal immune responses with a protein vaccine targeted to the DEC-205/CD205 receptor. *Vaccine*, 2012, no. 30 (45), pp. 6359–6367. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.08.051
  12. Philipovskiy A.V., Smiley S.T. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infection and Immunity*, 2007, vol. 75, no. 2, pp. 878–885. doi: 10.1128/IAI.01529-06
  13. Rajan T.V. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends Immunol.*, 2003, vol. 24, no. 7, pp. 376–379. doi: 10.1016/S1471-4906(03)00142-X

**Авторы:**

**Куличенко А.Н.**, член-корреспондент РАН, д.м.н., профессор, директор ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

**Абзаева Н.В.**, к.б.н., зав. научно-производственной лабораторией чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

**Гостищева С.Е.**, научный сотрудник научно-производственной лаборатории чумных вакцин ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

**Ракитина Е.Л.**, к.м.н., ведущий научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний лаборатории бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

**Пономаренко Д.Г.**, к.б.н., зав. лабораторией бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия;

**Костюченко М.В.**, научный сотрудник сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний лаборатории бруцеллеза ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ставрополь, Россия.

**Authors:**

**Kulichenko A.N.**, RAS Corresponding Member, PhD, MD (Medicine), Professor, Director of the Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

**Abzaeva N.V.**, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

**Gostischeva S.E.**, Researcher, Laboratory of Plague Vaccine Research and Production, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

**Rakitina E.L.**, PhD (Medicine), Leading Researcher, Department of Clinical Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Laboratory of Brucellosis, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

**Ponomarenko D.G.**, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Brucellosis, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation;

**Kostuchenko M.V.**, Researcher, Department of Clinical Immunology and Pathomorphology of Especially Dangerous Infectious Diseases, Laboratory of Brucellosis, Stavropol Plague Control Research Institute of Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Stavropol, Russian Federation.