

УДК 579.842.23:341.735

DOI: 10.14427/jipai.2026.1.12

Подбор иммунологических тестов, перспективных для оценки напряжённости иммунитета против чумы

С.Н. Ключева, С.А. Бугоркова, А.Л. Кравцов, Т.Н. Каштанова, В.А. Кожевников
ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов

Selection of promising immunological tests for assessing the strength of immunity against plague

S.N. Klyueva, S.A. Bugorkova, A.L. Kravtsov, T.N. Kashtanova, V.A. Kozhevnikov
Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор, Saratov, Russia

Аннотация

Ввиду отсутствия утверждённых стандартов оценки уровня поствакцинального иммунитета у людей, привитых против чумы, актуальным направлением исследований остаётся поиск информативных методов характеристики напряжённости специфического противочумного иммунитета у привитых лиц.

Цель работы – подобрать оптимальный набор информативных и доступных для оценки у людей иммунологических тестов, характеризующих эффективность противочумной вакцинации по результатам сопоставления изменения иммунологических параметров с показателями протективности при моделировании бубонной формы чумы на морских свинках.

Материалы и методы. На 3 и 21 сутки после иммунизации вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ у морских свинок проводили забор крови, затем на 21 сутки заражали подкожно культурой вирулентного штамма *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 LD₅₀ (2000 КОЕ/0,5 мл). Оценивали продукцию IFN-γ, IL-4, титр специфических антител к капсульному антигену чумного микроба (F1), показатель повреждения нейтрофилов (ППН), фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ). В используемых иммунологических тестах в качестве индукторов реактивности клеток использовали ультразвуковые дезинтеграты штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ и культуры *Y. pestis* EV НИИЭГ pTurboGFP-B, выращенные при 28°C и 37°C (EV_{UD28}, EV_{UD37} и EVGFP₂₈, EVGFP₃₇ соответственно).

Результаты. Выявлено достоверное повышение продукции IFN-γ в 2,8 раза на 3 сутки и в 2,1 раза на 21 сутки при использовании в качестве индуктора EV_{UD37} по сравнению с образцами, обработанными EV_{UD28} (p<0,05). На 3 сутки в образцах с EV_{UD37} в 1,8 раза повышался показатель ППН по сравнению с образцами с EV_{UD28}. На 21 сутки ФИ в опытах с EVGFP₃₇ достоверно превышал соответствующий показатель в опытах с EVGFP₂₈ (p<0,05). В опытной и контрольной группах в пробах с EVGFP₃₇ значения ФЧ значимо превосходили аналогичные показатели в пробах с EVGFP₂₈. Наиболее информативными иммунологическими показателями были значения IFN-γ и ФИ, что под-

Summary

Due to the lack of approved standards for assessing the level of post-vaccination immunity in people vaccinated against plague, the search for informative methods for characterizing the strength of specific anti-plague immunity in vaccinated individuals remains a relevant area of research.

The goal of this study is to select an optimal set of informative and readily available immunological tests for assessing the effectiveness of anti-plague vaccination by comparing changes in immunological parameters with protection indicators in a model of bubonic plague in guinea pigs.

Materials and methods. On days 3 and 21 after immunization with the *Y. pestis* EV NIEG vaccine strain, blood was collected from guinea pigs, then on day 21 they were infected subcutaneously with a culture of the virulent *Y. pestis* strain 231(708) at a dose of 400 LD₅₀ (2000 CFU/0.5 ml). The production of IFN-γ, IL-4, the titer of specific antibodies to the capsular antigen of the plague microbe (F1), the neutrophil injury index (NII), the phagocytic index (PI), and the phagocytic number (CN) were assessed. In the immunological tests used, ultrasonic disintegrates of the *Y. pestis* EV NIEG strain and *Y. pestis* EV NIEG pTurboGFP-B cultures grown at 28°C and 37°C (EV_{UD28}, EV_{UD37} and EVGFP₂₈, EVGFP₃₇ respectively) were used as inducers of cell reactivity.

Results. A significant increase in IFN-γ production was observed by 2.8 times on day 3 and by 2.1 times on day 21 when EV_{UD37} was used as an inducer compared to samples treated with EV_{UD28} (p<0.05). On day 3, the PPN index increased by 1.8 times in samples with EV_{UD37} compared to samples with EV_{UD28}. On day 21, the FI in experiments with EVGFP₃₇ significantly exceeded the corresponding index in experiments with EVGFP₂₈ (p<0.05). In both the experimental and control groups, the PF values in samples with EVGFP₃₇ significantly exceeded the similar indices in samples with EVGFP₂₈. The most informative immunological indicators were the values of IFN-γ and FI, which was confirmed by a strong direct correlation (from 0.92 to 0.99) with protective indicators (survival and life expectancy of animals).

Conclusion. According to our data, the most informative indicators of plague immunity are antigen-stimulated IFN-γ

тверждала сильная прямая корреляционная связь (от 0,92 до 0,99) с показателями протективности (выживаемость и продолжительность жизни животных).

Заключение. По нашим данным, наиболее информативными показателями напряжённости иммунитета против чумы являются антиген-стимулированная продукция IFN- γ и уровень фагоцитарной активности гранулоцитов. Таким образом, применение указанных иммунологических тестов может быть эффективно использовано для оценки иммунологической эффективности противочумной вакцинации контингентов риска.

Ключевые слова

Yersinia pestis, показатель повреждения нейтрофилов, IFN- γ , фагоцитарная активность, титры антител к F1.

Введение

Вследствие отсутствия в настоящее время утверждённых стандартов для оценки уровня и длительности поствакцинального иммунитета у людей, привитых вакциной чумной живой (ВЧЖ), актуальным направлением исследований остаётся поиск информативных тестов оценки напряжённости специфического противочумного иммунитета у привитых лиц, что имеет большое значение при обосновании и планировании специфических противоэпидемических (профилактических) мероприятий в отношении контингентов риска по заражению чумой [1–3].

Наиболее доступным способом оценки поствакцинального иммунитета у привитых лиц является определение уровня специфических антител [4], однако наличие антител к антигенам F1 и V не у всех млекопитающих коррелирует с защитой от *Y. pestis*, поскольку ведущая роль в противочумном иммунитете принадлежит клеточным факторам защиты [5]. В последние годы отечественными исследователями активно разрабатываются различные иммунологические тесты с использованием специфических антигенов в качестве индукторов клеточной реактивности, позволяющие характеризовать эффективность противочумной вакцинации. В качестве адекватной оценки иммунологической эффективности применения ВЧЖ было предложено определение количественных показателей антиген-индуцированной продукции IFN- γ и IL-17A [6]. В ряде исследований были рекомендованы методы для оценки иммунологической перестройки вакцинированных против чумы людей и животных по уровню дегрануляции нейтрофилов в тесте ППН (показатель повреждения нейтрофилов), показателей фагоцитарной активности, Th1-, Th2-цитокинов, иммунофенотипированию лимфоцитов крови (CD3,

production and the level of granulocyte phagocytic activity. Therefore, these immunological tests can be effectively used to assess the immunological efficacy of plague vaccination in at-risk populations.

Keywords

Yersinia pestis, neutrophil damage index, IFN- γ , phagocytic activity, F1 antibody titers.

CD4, CD8, CD16, CD19), уровню экспрессии маркеров ранней (CD45⁺CD3⁺CD25⁺) и поздней (CD45⁺CD3⁺HLA-DR⁺) активации лимфоцитов, параметров клеточного и гуморального ответа на активатор плазминогена Pla [1,2,7–11], однако в этих работах отсутствует доказательная база наличия достоверной связи уровня и диапазона характеризующих показателей с защитой от той или иной формы чумы. Получить такие доказательства можно только в условиях моделирования этой особо опасной инфекции, для чего необходимы адекватные биомодели. Наиболее адекватной лабораторной моделью для изучения инфекционного и вакцинального процесса при чуме является морская свинка, широко используемая для исследований в области аллергологии и иммунологии, при инфекционных и других заболеваниях из-за схожести ряда анатомических, иммунологических и биохимических особенностей её организма с таковыми у человека [12]. В связи с сопоставимостью у морских свинок и человека ряда физиологических параметров (близкий клеточный состав крови, биохимические и биофизические параметры клеток) и их изменений при специфическом инфекционном и вакцинальном процессах представляется возможным подобрать оптимальные тесты, характеризующие протективность вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ у биомодели, и рекомендовать их к использованию при оценке напряжённости противочумного иммунитета у людей.

Цель работы – подобрать оптимальный набор информативных и доступных для оценки у людей иммунологических тестов, характеризующих эффективность противочумной вакцинации по результатам сопоставления иммунологических параметров с показателями протективности при моделировании бубонной формы чумы на морских свинок.

Материалы и методы

Штаммы. Исследования проводили с вакцинным *Y. pestis* EV НИИЭГ и вирулентным *Y. pestis* 231(708) штаммами, полученными из Государственной коллекции патогенных бактерий при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Биофлуоресцентный вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ рTurboGFP-B любезно предоставлен с.н.с. отдела иммунологии, к.б.н. Будановой А.А.

Штаммы *Y. pestis* EV НИИЭГ и *Y. pestis* 231(708) выращивали на агаре LB (рН 7,2), *Y. pestis* EV НИИЭГ рTurboGFP-B – на агаре LB (рН 7,2) с ампициллином (50 мг/мл) в течение 48 ч при 28°C. Кроме того, двухсуточные 28°C-ные культуры вакцинных штаммов дополнительно подращивали в бульоне LB (рН 7,2) в течение 18 ч при температуре 37°C в условиях аэрации. Для получения ультразвукового дезинтеграта (EV_{уд28}, EV_{уд37}) выращенные при 28°C и 37°C культуры *Y. pestis* EV НИИЭГ в концентрации 1×10⁹ м.к./мл инактивировали нагреванием при 60°C в течение 1 ч 20 мин, затем подвергали 6 циклам ультразвуковой дезинтеграции при частоте колебаний 23 кГц на аппарате Soniprep 150 plus (MSE, UK).

Лабораторные животные. Экспериментальной моделью служили морские свинки весом 250–350 г (всего 54 особи), полученные из питомника при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с законодательством Российской Федерации (Приказ Минздрава Российской Федерации № 199Н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», 2016г.), следуя международным принципам (Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, 2010) обращения с биомоделями. Программа экспериментальной работы с животными одобрена Комиссией по биоэтике при ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (протокол № 1 от 16.01.2025г.).

Оценку протективности вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ проводили согласно МУ 3.3.1.1113-02 «Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба». Морские свинки были разделены на 4 опытных и 1 контрольную группу. Животных опытных групп иммунизировали подкожно *Y. pestis* EV НИИЭГ в дозах 4×10¹, 2×10², 2×10³, 5×10³ КОЕ/0,5 мл. На 21 сутки после иммунизации морских свинок заражали подкожно культурой вирулентного штамма *Y. pestis* 231(708) в дозе 400 LD₅₀ (2000 КОЕ/0,5 мл).

Ежедневно в течение 20 дней после заражения в каждой группе регистрировали павших животных. Рассчитывали иммунизирующую дозу (ImD₅₀), защищающую 50% вакцинированных животных от летального заражения вирулентным штаммом *Y. pestis* 231(708).

Для проведения иммунологических тестов у морских свинок, иммунизированных дозой 2×10³ КОЕ/0,5 мл, на 3 и 21 сутки осуществляли забор крови.

Иммуноферментный анализ. Продукцию IFN-γ и IL-4 определяли в супернатантах крови морских свинок с помощью ИФА-наборов (Cloud-Clone Corp, USA) на автоматическом иммуноферментном анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, USA). В качестве индукторов продукции цитокинов использовали дезинтеграт штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ, выращенного при температуре 28°C и 37°C (EV_{уд28}, EV_{уд37}).

Специфические антитела к капсульному антигену чумного микроба (F1) определяли в сыворотке крови с использованием коммерческой тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 *Yersinia pestis*» (производитель ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора).

Проточная цитофлуориметрия. Фагоцитарную активность гранулоцитов определяли на лазерном проточном цитометре (DakoCytomation, Дания) с программным обеспечением Summit v. 4.3 Built 2445 в микрообъемах цельной крови морских свинок методом, изложенным ранее [9]. В качестве объекта фагоцитоза применяли биофлуоресцентный вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ рTurboGFP-B (EVGFP), выращенный при 28°C и 37°C (EVGFP₂₈, EVGFP₃₇). В исследуемых образцах определяли фагоцитарный индекс (ФИ) – процент активных фагоцитов и фагоцитарное число (ФЧ) – число бактерий, поглощённых одной клеткой в условных единицах интенсивности.

Интенсивность повреждения гранулоцитов крови проводили ранее описанным методом [8]. По результатам анализа вычисляли значения показателя (индекса) повреждения нейтрофилов:

$$\text{ППН} = (D_{\text{PBS}} - D_{\text{уд}}) / D_{\text{PBS}}$$

где: D_{PBS} и $D_{\text{уд}}$ – это процент клеток, регистрируемых цитометром в гейте гранулоцитов в контрольном (с PBS) и опытном (EV_{уд28}, EV_{уд37}) образцах соответственно. Реакцию специфической сенсибилизации к исследуемому антигену для индексов ППН в пределах до 0,1 рассматривали как отрицательную; от 0,11 до 0,2 – как низкого уровня; от 0,21 до 0,3 – как

умеренного и выше 0,3 – как высокого уровня сенсibilизация.

Статистические методы. Обработку полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2016. Полученные данные представляли в виде медианы (Me) и квартильных отклонений (Q25-Q75). Достоверность уровня различия сравниваемых величин оценивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Корреляционно-регрессионный анализ по Пирсону применяли для оценки степени корреляции между исследуемыми параметрами. Корреляционные связи считали сильными при коэффициенте корреляции $r=0,7-1,0$, умеренной (средней) силы – при $r=0,3-0,69$, слабыми – при $r=0,1-0,29$, ниже 0,1 – корреляция отсутствовала.

Результаты и обсуждение

Исследование иммунологических показателей у иммунизированных животных проводили на 3 сутки (нестерильная фаза иммунитета) и перед заражением на 21-е сутки – в период формирования у морских свинок наиболее напряжённого приобретённого противочумного иммунитета [13].

Результаты оценки Th1-, Th2-цитокинов у иммунизированных морских свинок под влиянием специфических индукторов представлены в таблице 1. На 3 сутки индуцированный уровень IFN- γ достоверно был выше во всех пробах от иммунизированных животных независимо от индуктора. На 21 сутки иммуногенеза увеличивалась индуцированная и спонтанная продукция IFN- γ , особенно при использовании в качестве индуктора EV_{уд37}. Разница показателей в опытной группе и в контроле была достоверной ($p<0,05$).

Опираясь на литературные данные относительно антигенных различий культур чумного микроба, выращенных в условиях 28°C и 37°C [14,15], сопоставили уровни индуцированной

продукции IFN- γ в зависимости от температуры культивирования индуктора. Выявлено достоверное повышение индуцированной продукции IFN- γ в 2,8 раза на 3 сутки и в 2,1 раза на 21 сутки при использовании в качестве индуктора EV_{уд37} по сравнению с образцами, обработанными EV_{уд28} ($p<0,05$).

При исследовании уровня противовоспалительного цитокина IL-4 установлено его увеличение в ответ на индукцию EV_{уд28} и EV_{уд37} на 3 и 21 сутки ($p<0,05$). Различий в зависимости от температуры культивирования индуктора не выявлено.

Далее исследовали у иммунизированных морских свинок уровень сенсibilизации к антигенам чумного микроба в тесте повреждения нейтрофилов ППН, основанном на определении изменений в структуре ядра и в цитоплазме нейтрофилов, возникающих под воздействием специфических индукторов EV_{уд28} и EV_{уд37}.

При цитометрическом анализе образцов крови после добавления в них EV_{уд28} и EV_{уд37} выявляли выраженные различия в уровне дегрануляции и цитолиза гранулоцитов между опытными и контрольными образцами (рис. 1). На 21 сутки достоверно повышался ППН при добавлении EV_{уд28} и EV_{уд37} по сравнению с контрольными значениями ($p<0,05$). При активации гранулоцитов крови EV_{уд28} показатель ППН на 21 сутки превышал соответствующий показатель на 3 сутки ($p<0,05$). Кроме того, на 3 сутки иммунного ответа установлено различное влияние специфических индукторов в зависимости от условий их культивирования на ППН. Так, в образцах с EV_{уд37} в 1,8 раза повышался показатель ППН по сравнению с образцами с EV_{уд28}. Эти данные с использованием специфических дезинтеграторов подтверждают результаты наших предыдущих исследований, в которых наблюдали аналогичную картину в случае использования в качестве

Таблица 1. Антиген-индуцированная продукция цитокинов в супернатантах крови иммунизированных против чумы морских свинок *in vitro*, Me (Q25-Q75)

Группа	Индуктор	IFN- γ , пг/мл		IL-4, пг/мл	
		3 сут	21 сут	3 сут	21 сут
Y. pestis EV	PBS	21,8 (7,9-80,3)	42,5 (39,8-100,2)*	0,3 (0,06-1,1)	1,4 (0,1-2,3)
	EV _{уд28}	136,0 (114,3-223,8)*	117,6 (68,38-321,58)	1,2 (0,8-1,4)*	1,7 (0,5-2,8)*
	EV _{уд37}	385,7 (345,1-413,5)* ^o	243,3 (69,0-524,6)*	1,3 (1,3-1,9)*	1,7 (0,6-2,6)*
Контроль	PBS	18,17 (8,37-21,02)		0,96 (0,3-1,35)	
	EV _{уд28}	90,06 (48,53-99,84)		0,6 (0,45-0,65)	
	EV _{уд37}	98,06 (47,18-210,32)		0,7 (0,4-0,8)	

Примечание: * $p<0,05$ различия с контролем; * $p<0,05$ различия между 3 и 21 сутками; ^o $p<0,05$ различия в зависимости от температуры выращивания штамма Y. pestis EV НИИЭГ.

индуктора пестина – убитой нагреванием при 60°C культуры *Y. pestis* EV НИИЭГ [8].

Зарегистрированное повреждение нейтрофильных гранулоцитов на 21 сутки иммуногенеза под действием специфических антигенов *Y. pestis* может происходить в результате дегрануляции, цитолиза, аутолизиса (нетоз). По литературным данным, дегрануляция нейтрофильных гранулоцитов и аутолизис с высвобождением во внеклеточное пространство нейтрофильных экстрацеллюлярных сетей необходимы для развития защитной воспалительной реакции, как при вирусных, так и бактериальных инфекциях [16]. Кроме того, дегрануляция нейтрофилов является важнейшим критерием функциональной активации этих клеток в ответ на специфические аллергены и свидетельствует о формировании напряжённого иммунитета, а количественные маркеры интенсивности дегрануляции (нейтрофильная эластаза, миелопероксидаза, протеиназа-3, серин протеаза-4, щелочная фосфатаза, катепсин G) рассматриваются в качестве показателей иммуногенной активности бактериальных вакцин [17].

Опираясь на многочисленные данные о центральной роли фагоцитоза в защите организма

хозяина от чумной инфекции [18], на следующем этапе работы было проведено изучение фагоцитарной активности гранулоцитов крови иммунизированных морских свинок (табл. 2) и выявлено значимое повышение ФИ по отношению к EVGFP₂₈ на 3 и 21 сутки, а к EVGFP₃₇ – на 21 сутки по сравнению с контрольными значениями (p<0,05).

Следует отметить, что температура культивирования культуры чумного микроба, используемого в качестве индуктора, оказывала влияние на фагоцитарную активность и поглотительную способность нейтрофилов крови. Так, на 21 сутки показатель ФИ в опытах с EVGFP₃₇ достоверно превышал соответствующий показатель в опытах с EVGFP₂₈ (p<0,05). В опытной и контрольной группах в пробах с EVGFP₃₇ показатели ФЧ значимо превосходили аналогичные показатели в пробах с EVGFP₂₈.

Выявленное повышение фагоцитарной активности (ФИ) связано, вероятно, с появлением в крови иммунных животных функционально активных при фагоцитозе специфических IgG к антигенам чумного микроба, а также с тем, что праймированные под влиянием вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ нейтрофилы характеризуются

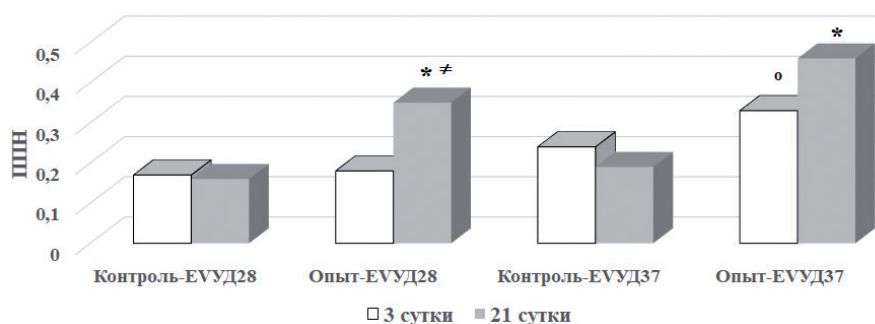


Рис. 1. Показатель повреждения нейтрофилов крови у иммунизированных против чумы морских свинок под влиянием специфических антигенов *Y. pestis* in vitro

Примечание: * p<0,05 различия с контролем; ≠ p<0,05 различия между 3 и 21 сутками; ° p<0,05 различия в зависимости от температуры выращивания штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Таблица 2. Показатели фагоцитарной активности гранулоцитов крови иммунизированных против чумы морских свинок при воздействии *Y. pestis* EV НИИЭГ pTurboGFP-B in vitro, Ме (Q25-Q75)

Группа	Сутки	Индуктор	Фагоцитарный индекс (%)	Фагоцитарное число (у.е.)
<i>Y. pestis</i> EV	3	EVGFP ₂₈	29,2(16,3-36,2)*	120(106-126)
	21	EVGFP ₂₈	24,8(19-47,9)*	105(93-135)
Контроль	3, 21		11,3(9,95-16,15)°	128,5(83-193,5)
<i>Y. pestis</i> EV	3	EVGFP ₃₇	25,5(25,1-41,3)	230(190-301)°
	21	EVGFP ₃₇	44,1(39,6-68,5)*°	165(160-295)°
Контроль	3, 21		25,05(17,1-29,7)°	282(191,5-369)°

Примечание: См. примечание к таблице 1.

повышенным уровнем экспрессии распознающих функциональные антитела Fc-R [19,20].

Далее проводили оценку развития гуморального иммунного ответа по уровню формирования специфических антител к F1 чумного микроба в сыворотках крови морских свинок. Образцы сывороток исследовали в разведениях от 1:40 до 1:5120. К 21 суткам титр антител к F1-антигену у иммунизированных животных составлял 1:640(1:320-1:1280).

Заражение иммунизированных биомоделей проводили на 21 сутки по окончании формирования специфической защиты [13]. Оценку протективной активности вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при подкожной иммунизации морских свинок проводили по изменению показателя ImD_{50} . Установлено, что показатель ImD_{50} , полученный при заражении иммунизированных лабораторных животных на 21 сутки иммуногенеза, составляет

263 КОЕ, что соответствует требованиям фармакопейной статьи ФС.3.3.1.0022.15 «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций» и не превышает 10^4 м.к. для морских свинок. Выживаемость животных при иммунизации дозой 5×10^3 КОЕ составляла 100% (рис. 2), средняя продолжительность жизни морских свинок после заражения вирулентной культурой чумного микроба в 2 раза превышала соответствующий показатель в группе контроля ($12,5 \pm 0,5$ сут и $6,0 \pm 0,4$ сут соответственно ($p < 0,05$).

Полученные иммунологические показатели были сопоставлены с результатами оценки протективности и проанализированы с помощью корреляционно-регрессионного анализа по Пирсону (табл. 3).

Из всех изученных иммунологических показателей только уровень IFN- γ и показатель ФИ

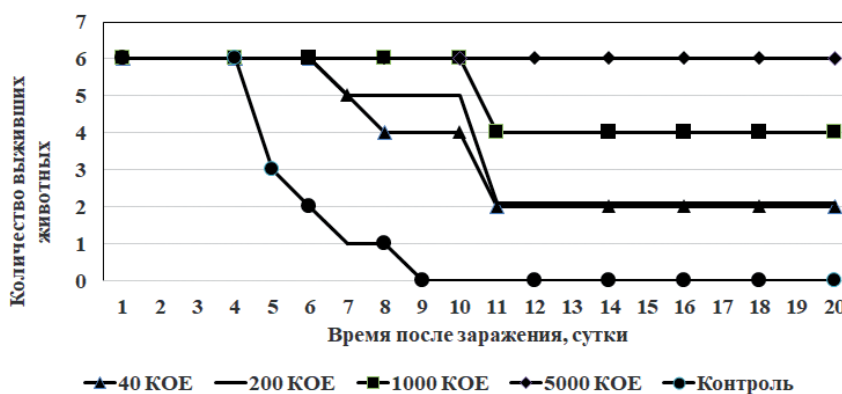


Рис. 2. Выживаемость морских свинок при подкожном заражении *Y. pestis* 231 в зависимости от иммунизирующей дозы *Y. pestis* EV НИИЭГ

Таблица 3. Характеристика взаимосвязи учитываемых иммунологических параметров и показателей протективности вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ

Параметр	Индуктор	Продолжительность жизни	Выживаемость
IFN- γ	EV _{уд28}	0,996*	0,943*
	EV _{уд37}	0,999*	0,926*
IL-4	EV _{уд28}	-0,066°	-0,479°
	EV _{уд37}	-0,033°	-0,45°
ППН	EV _{уд28}	0,313°	0,683*
	EV _{уд37}	0,267°	-0,162°
ФИ	EVGFP ₂₈	0,995*	0,945*
	EVGFP ₃₇	0,999*	0,929*
ФЧ	EVGFP ₂₈	-0,327°	-0,694*
	EVGFP ₃₇	-0,550°	-0,850*
АТ к F1	-	0,328°	0,550°

Примечание: зависимость признаков статистически значима при * $p < 0,05$; ° зависимость признаков статистически не значима ($p > 0,05$).

имели сильную прямую корреляционную связь с выживаемостью и продолжительностью жизни иммунизированных животных (от 0,92 до 0,99). Кроме того, наши результаты подтверждают ранее полученные данные о наличии сильной прямой корреляционной взаимосвязи между уровнем IFN- γ и выживаемостью лабораторных мышей [6]. Наличие сильных корреляций между фагоцитарной активностью (ФИ) с показателями протективности отражает способность нейтрофилов посредством реализации своей фагоцитарной функции обеспечивать защиту против чумы. Установленные сильные корреляционные связи между уровнем продукции IFN- γ и изменением показателя ФИ ($r=1.000$) у иммунизированных морских свинок свидетельствуют о сопряжённой функциональной активации лимфоцитарного и гранулоцитарного звеньев защиты и характеризуют интенсивность иммунной реакции на специфическую индукцию в тестах *in vitro*.

Литература

1. Куличенко А.Н., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., и др. Использование антигенспецифических клеточных тестов *in vitro* для оценки формирования поствакцинального противочумного иммунитета. *Инфекция и иммунитет*. 2017;7(2):203–208. doi:10.15789/2220-7619-2017-2-203-208.
2. Корытов К.М., Дубровина В.И., Войткова В.В., и др. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. Сообщение 2: динамика показателей иммунного статуса после ревакцинации. *Acta biomedica scientifica*. 2021;6(5):44-56. doi:10.29413/ABS.2021-6.5.5.
3. Специфическая профилактика чумы: состояние и перспективы. Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. Саратов: Амирит. 2021, 304 с.
4. Hartley L., Harold S., Hawe E. The efficacy, safety, and immunogenicity of plague vaccines: A systematic literature review. *Current Research in Immunology*. 2023;4:100072. doi:10.1016/j.crimmu.2023.100072.
5. Anisimov A.P., Vagaiskaya A.S., Trunyakova A.S., et al. Live plague vaccine development: past, present, and future. *Vaccines*. 2025;13:66. doi:10.3390/vaccines13010066.
6. Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Каштанова Т.Н. Выявление коррелятов протекции от *Yersinia pestis* на мышинной модели и оценка возможности применения их в качестве маркеров эффективности вакцинации у людей. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(2): 253–262. doi:10.15789/2220-7619-ICO-1734.
7. Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., Ключева С.Н., и др. Определение экспрессии Fc γ RIIIb (CD16) на поверхности нейтрофилов крови привитых против чумы людей. *Молекулярная медицина*. 2020;18(2):33–38. doi:10.29296/24999490-2020-02-06.
8. Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Ключева С.Н., и др. Цитометрическая оценка интенсивности повреждения гранулоцитов крови привитых против чумы морских свинок при взаимодействии с *Yersinia pestis* на модели бактериемии *ex vivo*. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2024;3:95-101. doi:10.14427/jipai.2024.3.95.
9. Ключева С.Н., Кравцов А.Л., Бугоркова С.А., и др. Фагоцитарная и цитокинпродуцирующая активность лейкоцитов крови мышей линии BALB/c, привитых против чумы на фоне иммуномодуляции полиоксидонием. *Российский иммунологический журнал*. 2019;13(22)(4):1412-1420. doi:10.31857/S102872210007044-3.
10. Дубровина В.И., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., и др. 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.
11. Feodorova V.A., Lyapina A.M., Khizhnyakova M.A., et al. Humoral and cellular immune responses to *Yersinia pestis* Pla antigen in humans immunized with live plague vaccine. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018; 12(6): e0006511. doi:10.1371/journal.pntd.0006511.
12. Мирошников М.В., Султанова К.Т., Ковалева М.А., и др. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референтных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 7: морские свинки. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2022;3:4–15. doi:10.57034/2618723X-2022-03-01.
13. Самойлова Л.В., Пионтковский С.А., Плотникова Е.А., и др. Особенности размножаемости вирулентного и вакцинного штаммов чумного микроба в организме морских свинок. *Профилактика особо опасных инфекций*. 1988;3-13.
14. Ляпина А.М., Федорова В.А., Хижнякова М.А., и др. Рекомбинантные полипептиды как биомаркеры оценки иммунологической эффективности вакцинации живой чумной вакциной у людей. *Медицинский академический журнал*. 2012;12(3):85–87.
15. Li B., Zhou L., Guo J., et al. High-throughput identification of new protective antigens from a *Yersinia pestis* live vaccine by enzyme-linked immunospot assay. *Infect Immun*. 2009;77(10):4356-4361. doi:10.1128/IAI.00242-09.
16. Schultz B.M., Acevedo O.A., Kalergis A.M., et al. Role of extracellular trap release during bacterial and viral infection. *Front Microbiol*. 2022;26(13):798853. doi:10.3389/fmicb.2022.798853.
17. Матосова Е.В., Андрюков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при

Заключение

По нашим данным, наиболее информативными тестами для оценки напряжённости иммунитета против чумы являются характеристика в иммуноферментном анализе антиген-стимулированной продукции IFN- γ и цитофлуориметрическая характеристика изменения показателя фагоцитарной активности (ФИ).

Показана возможность применения в качестве специфических индукторов иммунного ответа ультразвуковых дезинтеграторов клеток *Y. pestis* в тестах *in vitro*, причём наиболее эффективные результаты были получены при применении ультразвукового дезинтегратора культуры чумного микроба, выращенного в условиях 37°C.

Таким образом, применение указанных иммунологических тестов может быть эффективно использовано для оценки иммунологической эффективности противочумной вакцинации контингентов риска.

бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций. Российский иммунологический журнал. 2018;12(21)(1):17–27. doi:10.7868/S1028722118010021.

18. Shannon J.G., Hinnebusch B.J. Antibody opsonization enhances early interactions between *Yersinia pestis* and neutrophils in the skin and draining lymph node in a mouse model of bubonic plague. *Infect Immun*. 2020;89(1):e00061-20. doi:10.1128/IAI.00061-20.

19. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., и др.. Новый взгляд на нейтрофильные гранулоциты: переосмысление старых догм. Часть 2. Инфекция и иммунитет. 2018;8(1):7–18. doi:10.15789/2220-7619-2018-1-7-18.

20. Rosales C., Uribe-Querol E. Neutrophil activation by antibody receptors. In book: *Neutrophils*. Ed. Khajah M. London: Intechopen limited. 2019;85. doi:10.5772/intechopen.80666.

Сведения об авторах

Клюева Светлана Николаевна – к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов. E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5550-6063.

Бугоркова Светлана Александровна – д.м.н., зав. отделом иммунологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов. E-mail: rusrap1@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7548-4845.

Кравцов Александр Леонидович – д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов. E-mail: kravzov195723@gmail.com. ORCID: 0000-0002-9016-6578.

Каштанова Татьяна Николаевна – младший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов. E-mail: rusrap1@microbe.ru. ORCID: 0000-0003-3306-7183.

Кожевников Виталий Александрович – младший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов. E-mail: rusrap1@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7267-7027.

Поступила 22.12.2025.