

# ВЫЯВЛЕНИЕ КОРРЕЛЯТОВ ПРОТЕКЦИИ ОТ *YERSINIA PESTIS* НА МЫШИНОЙ МОДЕЛИ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИХ В КАЧЕСТВЕ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ У ЛЮДЕЙ

С.Н. Ключева, С.А. Бугоркова, Т.Н. Каштанова

ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия

**Резюме.** В условиях, когда оценка изменения уровня заболеваемости не может быть использована в качестве индикаторного показателя эффективности живой чумной вакцины, существует реальная необходимость поиска иных, в частности иммунологических, коррелятов защиты вакцинируемого. Цель работы — выявить иммунологические корреляты протекции от чумы у мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, и оценить динамику отобранных маркеров у привитых против чумы людей. Мышей BALB/c иммунизировали *Y. pestis* EV в дозах  $2 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^3$ ,  $2,5 \times 10^4$  КОЕ и на 21 сутки заражали *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD<sub>50</sub>. Иммуногенность рассчитывали по методу Кербера и определяли ImD<sub>50</sub>. Добровольцы — 20 человек, впервые привитые вакциной чумной живой, и 20 человек, не прививавшиеся от чумы. Продукцию цитокинов определяли на анализаторе LAZURIT (Dynex Technologies, США) в крови у мышей перед заражением *Y. pestis* 231 на 14 и 21 сутки после вакцинации, у людей — до введения вакцины, через 1, 6 и 12 месяцев после вакцинации. У иммунизированных мышей отмечено достоверное повышение (в 2,2 раза) индуцированной продукции IFN $\gamma$  и умеренное увеличение концентрации TNF $\alpha$ , IL-10 и IL-17A на 14 сутки иммуногенеза. Выявлена высокая корреляционная связь между показателем выживаемости животных и уровнем антиген-/митоген-индуцированной продукции IFN $\gamma$  ( $r = 0,94$ ,  $p = 0,039$ ) как на 14, так и на 21 сутки, а также заметная связь с уровнем продукции IL-10 и IL-17A на 14 сутки иммуногенеза. У добровольцев через месяц после прививки отмечено значимое увеличение к 6 месяцу ( $p < 0,05$ ) уровней IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10, IL-17A, хотя только для IFN $\gamma$  и IL-17A отмечено сохранение индуцированной продукции на достаточно высоком уровне до года. Таким образом, возможными информативными коррелятами защиты мышей от *Y. pestis* на 14 и 21 сутки можно считать IFN $\gamma$  и IL-17A, рассматривая повышение индуцированной продукции этих цитокинов в качестве адекватных маркеров протективной эффективности иммунизации, а оценка динамики этих показателей у добровольцев, привитых вакциной чумной живой, позволяет считать увеличение уровней IFN $\gamma$  и IL-17A благоприятным прогностическим маркером иммунологической эффективности вакцины в период с 6 по 12 месяцев наблюдения.

**Ключевые слова:** *Yersinia pestis*, вакцина чумная живая, цитокины, протективность, иммуногенность, противочумный иммунитет.

## Адрес для переписки:

Ключева Светлана Николаевна  
410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46,  
ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный  
институт «Микроб».  
Тел.: 8 (452) 26-21-31 (раб.), 8 987 830-50-75 (моб.).  
Факс: 8 (452) 51-52-12.  
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

## Contacts:

Svetlana N. Klyueva  
410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46,  
Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe".  
Phone: +7 (452) 26-21-31 (office), +7 987 830-50-75 (mobile).  
Fax: +7 (452) 51-52-12.  
E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

## Для цитирования:

Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Каштанова Т.Н. Выявление коррелятов протекции от *Yersinia pestis* на мышиной модели и оценка возможности применения их в качестве маркеров эффективности вакцинации у людей // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 2. С. 253–262. doi: 10.15789/2220-7619-ICO-1734

## Citation:

Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Kashtanova T.N. Identifying correlates of protection from *Yersinia pestis* on a mouse model and assessing an opportunity for their use as markers of human vaccination efficiency // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2022, vol. 12, no. 2, pp. 253–262. doi: 10.15789/2220-7619-ICO-1734

## IDENTIFYING CORRELATES OF PROTECTION FROM *YERSINIA PESTIS* ON A MOUSE MODEL AND ASSESSING AN OPPORTUNITY FOR THEIR USE AS MARKERS OF HUMAN VACCINATION EFFICIENCY

Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Kashtanova T.N.

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

**Abstract.** In case no assessment of changes in incidence rate can be used as an indicator for effectiveness of applied live plague vaccine, it is really necessary to search for other, particularly immunological correlates for vaccine-based protection. The aim of this study was to reveal immunological correlates for plague protection in mice immunized with *Yersinia pestis* EV N11EG, and assess dynamics changes in select markers of plague vaccinated subjects. BALB/c mice were immunized with *Y. pestis* EV at dose of  $2 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^3$ ,  $5 \times 10^3$ ,  $2.5 \times 10^4$  CFU, and on day 21 they were challenged with *Y. pestis* 231 at a dose of 400 LD<sub>50</sub>. Immunogenicity was calculated by the Kerber method and ImD<sub>50</sub> was determined. Volunteers — 20 subjects who were first vaccinated with live plague vaccine and 20 subjects who were not vaccinated against the plague. Blood cytokine production was measured on the LAZURIT analyzer (Dynex Technologies, USA) in mouse groups before *Y. pestis* 231 infection on day 14 as well as 21 days after vaccination, in humans — before vaccination, 1, 6 and 12 months after vaccination. The immunized mice showed a significant increase (by 2.2 times) in the induced production of IFN $\gamma$  and a moderate increase in the concentration of TNF $\alpha$ , IL-10 and IL-17A on day 14 of disease. A high correlation was found between the survival rate of animals and the level of antigen-/mitogen-induced IFN $\gamma$  production ( $r = 0.94$ ,  $p = 0.039$ ), both on day 14 and 21, as well as a noticeable relationship with the level of produced IL-10 and IL-17A on day 14. One month after vaccination volunteers had significantly increase by month 6 ( $p < 0.05$ ) levels of IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10, IL-17A, although only for IFN $\gamma$  and IL-17A, the persistence of induced production was noted at a fairly high level for up to a year. Thus, IFN $\gamma$  and IL-17A can be considered as possible informative correlates of mouse protection against *Y. pestis* on days 14 and 21, considering the increase in the induced production of these cytokines as adequate markers of the protective efficacy of immunization, and assessing dynamics in these parameters of volunteers vaccinated with the plague live vaccine, the increase in the levels of IFN $\gamma$  and IL-17A can be considered as a favorable prognostic marker of the immunological efficacy of the vaccine in the period from the month 6 to 12 of observation.

**Key words:** *Yersinia pestis*, live plague vaccine, cytokines, protection, immunogenicity, anti-plague immunity.

### Введение

Существует ключевой критерий профилактической (эпидемиологической) эффективности вакцинации — это снижение уровня заболеваемости среди вакцинированного контингента. Однако для чумы такой критерий не применим, поскольку вспышки этой болезни в современных условиях носят спорадический характер [2]. Внесенная в национальный календарь прививок<sup>1</sup> по эпидемическим показаниям вакцина чумная живая (ВЧЖ), используемая для профилактики чумы согласно инструкции по применению, обеспечивает защиту в течение 6–12 месяцев. Но отсутствие четких данных относительно эффективности вакцины в период между 6-м и 12-м месяцем затрудняет принятие управленческих решений о применении ВЧЖ в очередном эпидемиологическом сезоне [7].

В настоящее время для целого ряда вакцин против инфекций, имеющих широкое распространение в популяции, установлены уровни специфических антител, обеспечивающие надежную защиту от патогенов [3]. В отношении ВЧЖ, несмотря на более чем полувековую историю ее применения, по сей день не существует критериев оценки вакцинации против чумы

как профилактического мероприятия в связи с отсутствием случаев массового заболевания людей чумой. Попытки определения «защитного титра антител» для ВЧЖ в современных условиях позволили считать таковым титр антител к капсульному антигену F1 *Y. pestis* в диапазоне 1:160 и выше, причем было отмечено, что первичная вакцинация приводит к формированию и поддержанию такого уровня специфических антител лишь в период от 1-го до 4-х месяцев [20]. В то же время в экспериментальных исследованиях указывается на отсутствие связи между уровнем специфических антител к антигенам чумного микроба и антиинфекционной резистентностью биомоделей [14, 24, 25], не выявлено прямой корреляции между кратностью применения ВЧЖ и уровнем специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба [9]. Определение доступных иммунологических показателей у привитых, позволяющих корректно характеризовать не только иммунологическую эффективность ВЧЖ, но и быть сопоставимыми с эпидемиологической эффективностью мероприятия по специфической профилактике чумы, позволило бы обеспечить наиболее благоприятный режим применения препарата в условиях прогнозируе-

<sup>1</sup> Приказ Минздрава Российской Федерации от 21.03.2014 № 125н «О национальном календаре профилактических прививок и календаре профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

мого на протяжении нескольких лет неблагополучия по чуме на территории природных очагов этой инфекции.

В формировании противочумного иммунитета ведущая роль принадлежит клеточным факторам защиты [4, 5, 10, 22], оцениваемым по изменению функционального состояния клеток иммунной системы и характеристике реакций, ассоциированных с Th1-, Th2-клеточным ответом цитокинов, поэтому адекватный подход к поиску биомаркеров (коррелятов защиты) поствакцинального иммунитета даст возможность определить среди комплекса оценочных критериев тот необходимый минимум, позволяющий наиболее достоверно судить об эпидемиологической эффективности вакцинации привитого контингента.

Цель работы — выявить иммунологические корреляты протекции от чумы у мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, и оценить динамику отобранных маркеров иммунологической эффективности вакцинации у привитых против чумы людей.

## Материалы и методы

Исследования проводили с вакцинным *Y. pestis* EV НИИЭГ и вирулентным *Y. pestis* 231 штаммами, полученными из «Государственной коллекции патогенных бактерий» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). Культуру *Y. pestis* выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2) в течение 48 ч при 28°C. Из исходной взвеси (10<sup>9</sup> м.к.), приготовленной по стандарту мутности ОСО 42-28-59-85П готовили ряд десятикратных разведений для получения рабочих взвесей, которые содержали требуемое количество микробных клеток в 0,2 мл.

Мыши инбредной линии BALB/c (6–8 недель, масса 18–20 г), более чувствительной и восприимчивой к возбудителю чумы, были получены из отдела экспериментальных животных с виварием (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 и национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Эксперименты и эвтаназию животных осуществляли в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Программа экспериментальной работы с животными одобрена Комиссией по биоэтике при ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (протокол № 7 от 29.10.2019).

В серии предварительных экспериментов для вирулентного штамма *Y. pestis* 231 была определена вызывающая гибель 50% биомоделей (LD<sub>50</sub>) летальная доза, которая составила 3–9 КОЕ при подкожном введении бактерий. Мыши BALB/c (200 особей обоего пола) были разделены на четыре опытных и одну контрольную группу по 40 особей в каждой. I группу животных иммунизировали подкожно двухсуточной культурой *Y. pestis* EV НИИЭГ в концентрации 2 × 10<sup>2</sup> КОЕ, II группу — 1 × 10<sup>3</sup> КОЕ, III — 5 × 10<sup>3</sup> КОЕ, IV — 2,5 × 10<sup>4</sup> КОЕ. Контрольную группу (V) составили интактные мыши. На 14 и 21 сутки после иммунизации проводили заражение мышей подкожным введением вирулентного штамма *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD<sub>50</sub> (3600 КОЕ). Ежедневно в течение 20 дней после заражения в каждой группе регистрировали павших животных. Гибель от чумы подтверждали наличием чумного микроба в посевах крови на бульон Хоттингера рН 7,2 и органов на агар Хоттингера рН 7,2 с гемолизированной кровью и генцианвиолетом, а также соответствующей патологоанатомической картиной. Посевы инкубировали в течение 5 суток при температуре 28°C с ежедневным просмотром. Всех выживших животных по окончании наблюдения (21 сутки) выводили из эксперимента с помощью паров хлороформа. Иммуногенность определяли по показателю ImD<sub>50</sub> (средняя иммунизирующая доза), который рассчитывали по методу Кербера по формуле:  $\lg \text{ImD}_{50} = \lg D_n - \Delta(\sum Li - 0,5)$ , где D<sub>n</sub> — максимальная величина дозы; n — общее число испытанных доз; lgD<sub>n</sub> — логарифм максимальной иммунизирующей (фактической) дозы; Li — отношение числа животных, выживших при иммунизации данной дозой, к общему числу животных, которым эта доза была введена; i — соответствует номеру дозы, если считать наименьшую из испытанных доз первой;  $\sum Li$  — сумма значений, найденных для всех испытанных доз;  $\Delta$  — логарифм кратности разведений [1].

Продукцию цитокинов в клеточных культурах крови мышей определяли перед заражением на 14 и 21 сутки. Для этого гепаринизированную кровь разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко). В качестве индукторов продукции цитокинов использовали обеззараженную нагреванием при 60°C в течение 1 ч 20 мин взвесь двухсуточной культуры *Y. pestis* EV НИИЭГ, приготовленную по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-59-85П в 0,9% растворе натрия хлорида рН 7,2 в концентрации 10<sup>9</sup> м.к./мл [6], и стандартный Т-клеточный митоген конканавалин А (ПанЭко, Россия) в концентрации 15 мкг/мл. Опытные и контрольные образцы инкубировали в течение

24 часов при температуре 37°C. Клеточные суспензии осаждали центрифугированием при 300g в течение 15 мин, отбирали супернатанты. Индуцированную продукцию цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов для определения IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-4, IL-17 (Abcam, Англия), IL-10 (eBioscience, Австрия). Исследования выполняли на автоматическом иммуноферментном анализаторе LAZURIT (Dy nex Technologies, США) при длине волны 450 нм.

Параллельно проводилась оценка иммунологической эффективности ВЧЖ на добровольцах. В исследовании приняли участие 20 добровольцев, впервые вакцинированных по эпидемическим показаниям ВЧЖ, в группу сравнения (20 человек) вошли лица, не прививавшиеся от чумы. От каждого добровольца было получено информированное согласие. Работа одобрена этическим комитетом при ФГБУ ВО Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского (протокол № 5 от 02.02.2016). Вакцинация проводилась ВЧЖ (производитель — ФКУЗ Ставропольский НИПЧИ, серия № 1-15) на кожном способом в дозе  $3 \times 10^9$  микробных клеток в 0,15 мл в соответствии с инструкцией по применению препарата. Кровь забирали из локтевой вены до вакцинации, а также через 1, 6 и 12 месяцев после ее проведения. Для определения продукции цитокинов венозную кровь с гепарином разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко, Россия), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко). В качестве индуктора продукции цитокинов использовали стандартный Т-клеточный митоген конканавалин А (ПанЭко, Россия) в концентрации 15 мкг/мл. Продукцию цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов для определения IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-4, IL-10 (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), IL-17A (eBioscience, Австрия) на автоматическом иммуноферментном анализаторе LAZURIT (Dy nex Technologies, США).

Антитела к FI *Yersinia pestis* определяли в сыворотках крови людей с помощью иммуноферментной тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2016, Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2010). Взаимосвязь между переменными определяли с помощью корреляционно-регрессионного анализа (коэффициент корреляции Пирсона). Достоверность различий сравниваемых величин оценивали с помощью парного t-критерия Стьюдента и W-критерия Уилкоксона.

## Результаты

Проанализировав у экспериментальных животных на 14 и 21 сутки после иммунизации *Y. pestis* EV НИИЭГ реакцию ряда цитокинов, мы выявили среди них те, которые претерпевали наибольшие изменения как при антигенной (убитые клетки *Y. pestis* EV), так и митогенной (коммерческий препарат конканавалин А — стандартный Т-клеточный митоген) стимуляции клеток крови (табл. 1). Оценка антиген-/митоген-индуцированной продукции цитокинов отражает реактивность клеток иммунной системы и их готовность к реагированию на патоген.

По данным иммуноферментного анализа установлено существенное увеличение IFN $\gamma$  в крови иммунизированных мышей как на 14, так и 21 сутки иммуногенеза по сравнению с показателями в группе контроля ( $p < 0,05$ ).

С увеличением иммунизирующей дозы отмечено достоверное повышение антиген-/митоген-индуцированной продукции TNF $\alpha$ , IL-10 и IL-17A на 14 сутки иммуногенеза по сравнению с показателями в группе контроля ( $p < 0,05$ ) и, напротив, на 21 сутки иммуногенеза повышение антиген-/митоген-индуцированной продукции IL-17A при иммунизации низкими дозами  $2 \times 10^2$  и  $1 \times 10^3$  КОЕ ( $p < 0,05$ ) *Y. pestis* EV НИИЭГ.

Заражение иммунизированных биомоделей проводили в период становления иммунологической перестройки (14 сутки иммуногенеза) и по окончании формирования специфической защиты на 21 сутки [8]. Оценку иммуногенной (протективной) активности вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ при подкожной иммунизации мышей проводили по изменению показателя ImD $_{50}$ .

Установлено, что показатели ImD $_{50}$ , полученные при заражении лабораторных животных на 14 и 21 сутки, соответствуют требованиям фармакопейной статьи «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, кожного скарификационного нанесения и ингаляций» и не превышают  $4 \times 10^4$  КОЕ для белых мышей. Иммуногенность вакцинного штамма *Y. pestis* EV была выше при заражении биопробных животных на 21 сутки. В этом случае показатель ImD $_{50}$  был в 2,3 раза ниже, чем при заражении мышей на 14 сутки ( $2,1 \times 10^3$  КОЕ и  $4,9 \times 10^3$  КОЕ соответственно,  $p < 0,05$ ). Установлено, что продолжительность жизни животных в IV группе ( $2,5 \times 10^4$  КОЕ) при заражении как на 14, так и на 21 сутки была соответственно в 1,7 и 2,1 раза выше аналогичного показателя в контроле ( $p < 0,05$ ) (рис.).

Полученные данные были проанализированы с помощью корреляционно-регрессионного анализа Пирсона. Выявлена сильная прямая



корреляционная связь показателя выживаемости животных в группах с уровнем антиген-индуцированной продукции  $IFN\gamma$  ( $r = 0,94$ ,  $p = 0,039$ ) при заражении мышей на 14 сутки после иммунизации, а также с уровнем митоген-индуцированной продукции ( $r = 0,90$ ,  $p = 0,045$ ) при заражении на 21 сутки.

Заметная корреляционная связь установлена на 14 сутки иммуногенеза между показателями выживаемости животных и уровнем антиген-индуцированной продукции  $TNF\alpha$  ( $r = 0,88$ ,  $p = 0,08$ ), однако связь эта не являлась достоверной. Выявлена высокая корреляционная зависимость между показателем выживаемости животных и уровнем митоген-индуцированной продукции  $IL-10$  и  $IL-17A$  на 14 сутки иммуногенеза ( $r = 0,94$ ,  $p = 0,04$ ).

У добровольцев через месяц после прививки повышались показатели митоген-индуцированной продукции всех определяемых цитокинов, но значимо увеличивались к 6 месяцу наблюдения ( $p < 0,05$ ) уровни  $IFN\gamma$ ,  $TNF\alpha$ ,  $IL-10$ ,  $IL-17A$ , хотя лишь для  $IFN\gamma$  и  $IL-17A$  отмечено сохранение индуцированной продукции этих цитокинов на достаточно высоком уровне до года после прививки (табл. 2).

При оценке динамики титров специфических антител к капсульному антигену (F1) *Y. pestis* только у 30% привитых через месяц после вакцинации специфические антитела регистрировали на уровне 1:80–1:160 (табл. 2). К 12 месяцу после прививки доля лиц с титром специфических антител на уровне 1:80–1:320 не превышала 53%. Однако медианные зна-

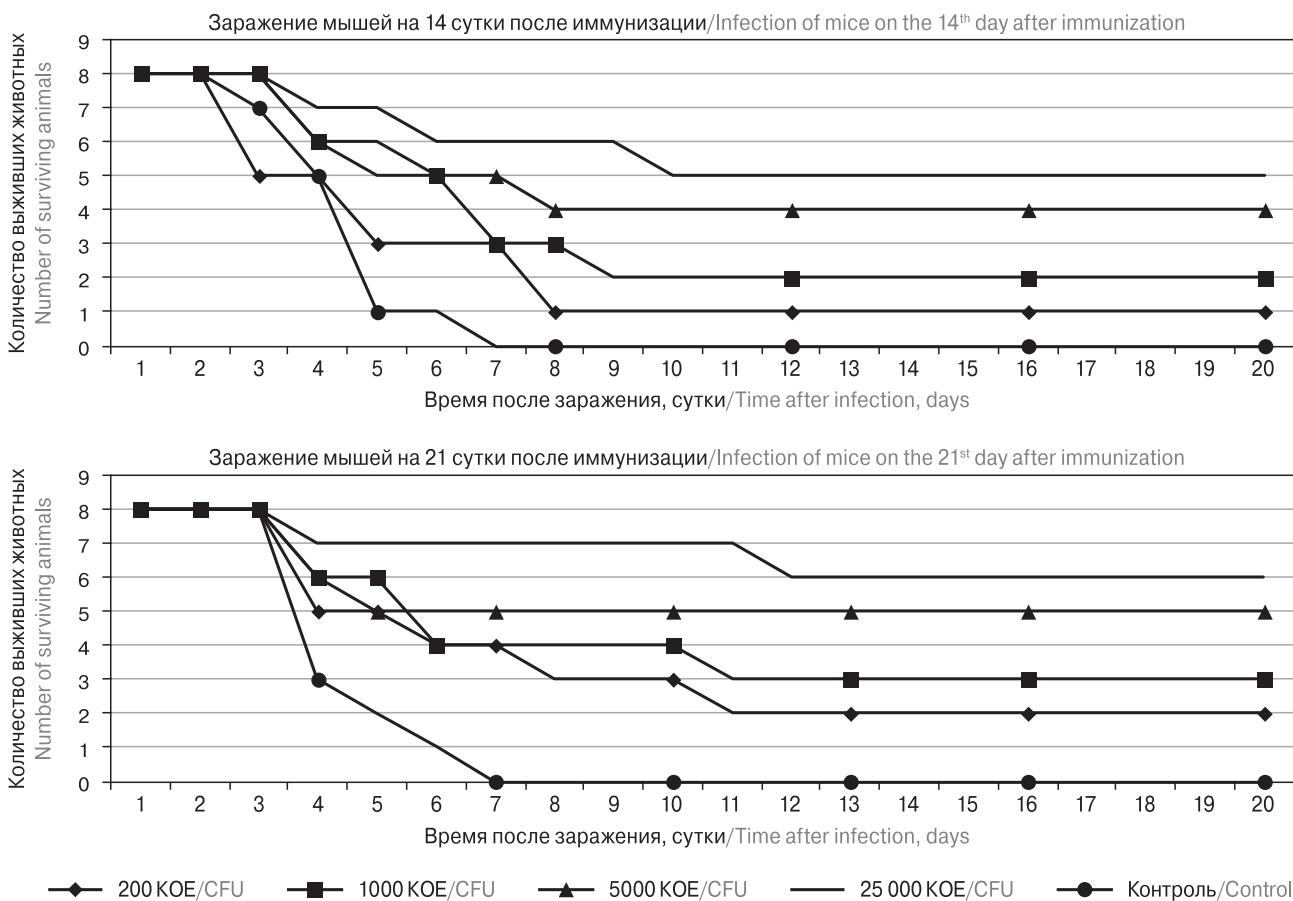
**Таблица 1. Индуцированная продукция цитокинов в супернатантах крови мышей линии BALB/c в динамике противочумного ответа *in vitro*,  $M \pm m$**

Table 1. Induced production of cytokines in blood supernatants of BALB/c mice in the dynamics of the anti-plague response *in vitro*,  $M \pm m$

Цитокин Cytokine	Доза, КОЕ Dose, CFU	14 сутки 14 days		21 сутки 21 days	
		<i>Y. pestis</i> EV	Concanavalin A	<i>Y. pestis</i> EV	Concanavalin A
IFN $\gamma$	$2 \times 10^2$ (n = 10)	41,7 $\pm$ 11,7	75,5 $\pm$ 38,4	88,3 $\pm$ 49,1	73,2 $\pm$ 13,8
	$1 \times 10^3$ (n = 10)	42,8 $\pm$ 10,1	102,1 $\pm$ 24,2*	177,2 $\pm$ 53,7*	96,7 $\pm$ 12,1*
	$5 \times 10^3$ (n = 10)	98,1 $\pm$ 23,3*	67,7 $\pm$ 8,7	99,7 $\pm$ 26,6	98,2 $\pm$ 9,3*
	$2,5 \times 10^4$ (n = 10)	105,1 $\pm$ 25,8*	97,7 $\pm$ 10,5*	108,1 $\pm$ 22,6*	97,7 $\pm$ 7,4*
	Контроль (n = 10) Control	40,8 $\pm$ 11,8	42,6 $\pm$ 10,3	53,5 $\pm$ 8,8	50,7 $\pm$ 16,6
TNF $\alpha$	$2 \times 10^2$ (n = 10)	72,2 $\pm$ 1,6	73 $\pm$ 7,4	74,5 $\pm$ 7,1	82,4 $\pm$ 6,5
	$1 \times 10^3$ (n = 10)	71,8 $\pm$ 2,6	88,9 $\pm$ 6,5*	84,6 $\pm$ 3,9	71,4 $\pm$ 4,8
	$5 \times 10^3$ (n = 10)	81,1 $\pm$ 1,6*	86,2 $\pm$ 3,2*	62,9 $\pm$ 3,7	70,1 $\pm$ 6,0
	$2,5 \times 10^4$ (n = 10)	78,3 $\pm$ 7,1	69,6 $\pm$ 5,4	54,9 $\pm$ 15,7	90,2 $\pm$ 5,4*
	Контроль (n = 10) Control	71,0 $\pm$ 4,0	67,5 $\pm$ 6,0	75,0 $\pm$ 9,7	70,9 $\pm$ 3,4
IL-4	$2 \times 10^2$ (n = 10)	29,5 $\pm$ 2,0*	27,1 $\pm$ 2,2*	34,5 $\pm$ 3,8	45,7 $\pm$ 8,5
	$1 \times 10^3$ (n = 10)	13,7 $\pm$ 1,7*	21,1 $\pm$ 0,8*	27,7 $\pm$ 2,1*	48,3 $\pm$ 3,9
	$5 \times 10^3$ (n = 10)	25,2 $\pm$ 4,2	39,0 $\pm$ 3,6	43,5 $\pm$ 4,2	59,3 $\pm$ 3,4*
	$2,5 \times 10^4$ (n = 10)	21,6 $\pm$ 0,8	25,1 $\pm$ 0,7*	40,5 $\pm$ 3,4	59,3 $\pm$ 2,8*
	Контроль (n = 10) Control	21,4 $\pm$ 1,9	42,4 $\pm$ 2,1	39,5 $\pm$ 2,2	45,8 $\pm$ 1,8
IL-10	$2 \times 10^2$ (n = 10)	84,8 $\pm$ 6,1	12,7 $\pm$ 0,1*	47,1 $\pm$ 4,7*	13,6 $\pm$ 0,3
	$1 \times 10^3$ (n = 10)	69,8 $\pm$ 2,2	13,1 $\pm$ 0,1*	70,1 $\pm$ 2,2	12,6 $\pm$ 0,1
	$5 \times 10^3$ (n = 10)	94,6 $\pm$ 7,8*	16,9 $\pm$ 1,3*	87,9 $\pm$ 3,4	12,1 $\pm$ 0,1
	$2,5 \times 10^4$ (n = 10)	77,8 $\pm$ 4,9	23,4 $\pm$ 0,8*	63,8 $\pm$ 1,5	12,5 $\pm$ 0,2
	Контроль (n = 10) Control	72,9 $\pm$ 5,5	10,9 $\pm$ 0,1	95,2 $\pm$ 1,7	12,1 $\pm$ 0,1
IL-17A	$2 \times 10^2$ (n = 10)	9,8 $\pm$ 1,4	8,8 $\pm$ 0,6	17,6 $\pm$ 0,8*	9,6 $\pm$ 0,5*
	$1 \times 10^3$ (n = 10)	9,5 $\pm$ 1,8	9,2 $\pm$ 1,1	13,5 $\pm$ 0,8*	9,2 $\pm$ 0,6*
	$5 \times 10^3$ (n = 10)	13,5 $\pm$ 1,3*	11,5 $\pm$ 2,3*	8,5 $\pm$ 1,6	5,1 $\pm$ 0,2
	$2,5 \times 10^4$ (n = 10)	11,5 $\pm$ 4,0	10,9 $\pm$ 0,7*	6,5 $\pm$ 0,5	4,5 $\pm$ 0,3
	Контроль (n = 10) Control	9,4 $\pm$ 1,0	6,5 $\pm$ 0,5	8,2 $\pm$ 0,7	5,4 $\pm$ 0,7

Примечание. \* $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

Note. \* $p < 0,05$  compared to control.



**Рисунок. Выживаемость мышей линии BALB/c при подкожном заражении *Y. pestis* 231 в зависимости от иммунизирующей дозы *Y. pestis* EV НИИЭГ**

Figure. Survival of BALB/c mice under subcutaneous infection with *Y. pestis* 231, depending on the immunizing dose of *Y. pestis* EV НИИЭГ

чения обратных титров антител к F1 чумного микроба после вакцинации достоверно не различались во все периоды наблюдения (табл. 2).

По результатам корреляционного анализа выявлена заметная взаимосвязь между титром специфических антител к капсульному антигену (F1) *Y. pestis* и уровнем  $IFN\gamma$  ( $r = 0,75$ ,  $p = 0,19$ ), однако она не являлась достоверной.

## Обсуждение

Основной механизм действия вакцин — защита от инфекции — включает активацию как гуморального, так и клеточного звеньев иммунной системы, что позволяет или предотвратить развитие инфекции, или снизить риск развития тяжелого течения болезни.

Если в отношении инфекций, управляемых с помощью вакцин, четко известен иммунный показатель («защитный титр антител»), характеризующий эффективность защиты от заболевания, то в отношении чумы, к сожалению, не установлены маркеры, коррелирующие с эффективной защитой от инфекции [15]. Поэтому поиск потенциальных коррелятов защиты

в модельных экспериментах с использованием животных необходим для определения маркеров эффективности специфической профилактики чумы у человека. Ранее было отмечено, что для эффективной защиты от чумы в равной мере необходима активация гуморального и клеточного звеньев иммунной системы [18, 26]. В настоящее время считается, что активация клеток, ассоциированных с продукцией ряда цитокинов ( $TNF\alpha$  и  $IFN\gamma$ ), обеспечивает значительную протекцию даже в отсутствие формирования специфических антител [13, 16, 17, 18]. ВОЗ для вакцин, в отношении которых не установлены четкие корреляты защиты, предлагает применять методический подход, основанный на оценке каскада цитокиновых реакций, инициируемых в ответ на прививку [19, 23]. Выявление последних на основе иммунологических данных, которые, как было установлено, статистически коррелируют с защитной эффективностью в модельном эксперименте по заражению мышей линии BALB/c, способствовало определению маркеров эффективности специфической профилактики чумы с помощью ВЧЖ.

Результаты наших экспериментов по продукции цитокинов в организме вакцинированной *Y. pestis* EV НИИЭГ биомодели свидетельствуют о значительной активации противочумного иммунитета как в фазе инициации иммунного ответа (14 сутки), так и в период окончательного формирования поствакцинального иммунитета (21 сутки). Анализ полученных данных позволил выявить ряд особенностей индуцированной продукции изученных цитокинов (IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-4, IL-10, IL-17A) в зависимости от периода, прошедшего после иммунизации (14 или 21 сутки), и иммунизирующей дозы вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Если антиген-/митоген-индуцированная продукция IFN $\gamma$ , IL-10 и IL-17A повышалась в среднем соответственно в 2,2, 1,4 и 1,6 раза,

начиная с 14-х суток иммуногенеза и далее, то четкое доказательство корреляции концентрации указанных цитокинов с эффективностью защиты лабораторных животных от летальной дозы вирулентного штамма *Y. pestis* 231 продемонстрировано именно для IFN $\gamma$ . Полученные результаты согласуются с данными зарубежных исследователей, определивших, что при стимуляции убитыми клетками *Y. pestis* CO92 или *Y. pestis* C12 (*Y. pestis* CO92, F1<sup>-</sup>) спленоцитов мышей BALB/c, подкожно иммунизированных мутантными штаммами *Y. pestis* CO92 и *Y. pestis* KIM6, наибольшую активность демонстрируют IFN $\gamma$ , IL-10, IL-17A, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-13, IL-9 [13]. Кроме того, увеличение IFN $\gamma$ , IL-10, IL-17A, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  наблюдалось в Т-клетках селезенки мышей, иммунизиро-

**Таблица 2. Иммунологические показатели крови добровольцев, вакцинированных живой чумной вакциной**

Table 2. Immunological parameters of the blood of volunteers vaccinated with a live plague vaccine

Показатель Indicator	Период наблюдения (месяц) Observation period (month)	Вакцинированные добровольцы Vaccinated volunteers n = 20	Группа сравнения Comparison group n = 20
		Me (Q <sub>25</sub> %–Q <sub>75</sub> %)	
IFN $\gamma$ , пг/мл IFN $\gamma$ , pg/ml	До вакцинации Before vaccination	85,5 (12,8–214,2)	82,0 (71,4–92,2)
	1	159,2 (14,6–457,6)	
	6	519,9 (426,0–895,2)*	
	12	245,9 (194,6–281,7)*	
TNF $\alpha$ , пг/мл TNF $\alpha$ , pg/ml	До вакцинации Before vaccination	26,5 (21,7–41,7)	33,7 (27,8–54,1)
	1	67,3 (5,7–102,2)	
	6	341,9 (194,3–381,2)*	
	12	32,9 (20,4–49,7)	
IL-4, пг/мл IL-4, pg/ml	До вакцинации Before vaccination	2,1 (1,3–3,8)	1,8 (1,2–2,2)
	1	3,0 (2,3–6,8)	
	6	1,3 (0,6–2,0)	
	12	0,4 (0,2–0,8)	
IL-10, пг/мл IL-10, pg/ml	До вакцинации Before vaccination	17,4 (3,2–24,0)	22,3 (17,8–28,7)
	1	28,1 (5,4–45,8)	
	6	99,6 (42,8–158,9)*	
	12	17,8 (16,9–19,7)	
IL-17A, пг/мл IL-17A, pg/ml	До вакцинации Before vaccination	11,3 (1,3–28,9)	13,2 (7,6–18,5)
	1	16,8 (0,8–61,0)	
	6	116,4 (65,9–150,6)*	
	12	69,7 (36,4–80,3)*	
Обратные титры антител к F1-антигену Reverse titers of antibodies to F1 antigen	До вакцинации Before vaccination	0	0
	1	60 (40–80)	
	6	73,7 (40–80)	
	12	80 (40–160)	

**Примечание.** \*p < 0,05 по сравнению с показателем до вакцинации.

Note. \*p < 0,05 compared compared to before vaccination.

ванных внутримышечно *Y. pestis* CO92 ( $\Delta$  lpp  $\Delta$  msbB  $\Delta$  ail) в ответ на рестимуляцию убитыми нагреванием клетками *Y. pestis* CO92 [21].

Установленный факт активации IL-17A и корреляция на 14 сутки иммуногенеза продукции этого цитокина с выживаемостью зараженных культурой вирулентного штамма *Y. pestis* 231 мышей также согласуется с данными зарубежных исследователей, доказавших способность IFN $\gamma$  и IL-17A обеспечивать защиту мышей линии C57BL/6 от легочной чумы при полном отсутствии защитных антител после заражения вирулентными штаммами *Y. pestis* KIM D27 и *Y. pestis* CO92 [16, 17, 18].

Известна роль IL-17A и IFN $\gamma$  в иммуногенезе *Y. pestis*, заключающаяся в синергическом стимулировании макрофагов, что еще раз подтверждает функцию IL-17A как внутреннего регулятора в координации антимикробной активности нейтрофилов и макрофагов при обеспечении защиты от острой легочной чумы [11].

Кроме того, кластерный анализ, основанный на изучении изменения профиля цитокинов хозяина при воздействии различными патогенами, свидетельствует об особой роли IL-10 в пато- и иммуногенезе при чуме [12].

В наших исследованиях с добровольцами, вакцинированными ВЧЖ, отмечено увеличение через 6 месяцев после прививки уровня IL-10 в 4,4 раза, а через 6–12 месяцев — уровней IFN $\gamma$  и IL-17A в 3,4 и 2,8 раза соответственно. Полученные данные согласуются с клиниче-

скими исследованиями на добровольцах, показавших, что вакцинация субъединичной вакциной на основе химерного белка, объединяющего капсульный антиген (F1) и V-антигены чумного микроба и иммунодоминантную часть флагеллина *Salmonella enterica* (F1/V/Фл), индуцировала значительное увеличение количества CD4<sup>+</sup> Т-клеток и изменяла концентрацию IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-10 на 14-й день после второй вакцинации [15].

Наши данные по оценке корреляционной связи между уровнем IFN $\gamma$  и титром специфических антител к капсульному антигену (F1) *Y. pestis* у добровольцев соотносятся с данными об отсутствии существенных корреляций между CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитами, продуцирующими IFN $\gamma$ , и специфическими антителами при вакцинации субъединичной вакциной F1/V/Фл [15].

Таким образом, возможными информативными коррелятами защиты мышей от чумы на 14 и 21 сутки можно считать IFN $\gamma$  и IL-17A, рассматривая повышение индуцированной продукции этих цитокинов в качестве адекватных маркеров протективной эффективности иммунизации, а оценка динамики этих показателей у добровольцев, привитых ВЧЖ, позволяет считать увеличение индуцированной продукции IFN $\gamma$  и IL-17A благоприятным прогностическим маркером иммунологической эффективности вакцины в период с 6-го по 12-й месяц наблюдения.

## Список литературы/References

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз, 1962. [Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statistical methods in microbiological research. Leningrad: Medgiz, 1962. (In Russ.)]
2. Балахонов С.В., Ярыгина М.Б., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Витязева С.А., Остяк А.С., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Косилко С.А., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 2. Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика изолированных штаммов // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 4. С. 51–55. [Balakhonov S.V., Yarygina M.B., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.K., Vityazeva S.A., Ostyak A.S., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Kosilko S.A., Korzun V.M. A Case of human plague in Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 2. Microbiological and molecular-genetic characteristics of the isolated strains. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2016, no. 4, pp. 51–55. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-51-55
3. Брико Н.И., Лобзин Ю.В., Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Ильина С.В., Королёва И.С., Харит С.М., Сидоренко С.В., Таточенко В.К., Маянский Н.А., Куличенко Т.В., Полибин Р.В., Сабитов А.У., Ковтун О.П., Романенко В.В. Оценка эффективности вакцинации: основные подходы и спорные вопросы // Педиатрическая фармакология. 2014. Т. 11, № 4. С. 8–15. [Briko N.I., Lobzin Y.V., Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Il'ina S.V., Koroleva I.S., Kharit S.M., Sidorenko S.V., Tatchenko V.K., Mayanskii N.A., Kulichenko T.V., Polibin R.V., Sabitov A.U., Kovtun O.P., Romanenko V.V. Assessment of vaccination program effectiveness: basic approaches and issues. *Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric Pharmacology*, 2014, vol. 11, no. 4, pp. 8–15. (In Russ.)] doi: 10.15690/pf.v11i4.1057
4. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшис Н.И., Ключева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Кожевников В.А., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Бембеева Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018. Т. 17, № 3. С. 38–50. [Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Mikshis N.I., Klyueva S.N., Kudryavtseva O.M., Kravtsov A.L., Goncharova A.Y., Kozhevnikov V.A., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Bembeeva E.S., Shcherbakova S.A., Kutuyev V.V. Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the Pre-Caspian sand foci of the plague in the republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2018, vol. 17, no. 3, pp. 38–50. (In Russ.)] doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50



5. Ключева С.Н., Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Санджиев Д.Н., Конушева С.В., Савченко С.П., Хасыкова Б.А., Шербакова С.А. Оценка уровня гуморального и клеточного иммунитета после ревакцинации против чумы лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного природного очага // Медицинская иммунология. 2018. Т. 20, № 2. С. 241–250. [Klyueva S.N., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Sandzhiev D.N., Konusheva S.V., Savchenko S.P., Khasyikova B.A., Shcherbakova S.A. Assessment of the level of humoral and cellular immunity after revaccination against the plague of persons living on the territory of the Caspian sandy natural focus. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, vol. 20, no. 2, pp. 241–250. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-241-250
6. Ключева С.Н., Шмелькова Т.П., Шуковская Т.Н. Влияние олигодезоксинуклеотида CpG ODN 2006 на продукцию цитокинов клетками крови людей, вакцинированных против чумы // Медицинская иммунология. 2014. Т. 16, № 6. С. 531–538. [Klyueva S.N., Shmelkova T.P., Shchukovskaya T.N. Influence of CpG ODN 2006 oligodeoxynucleotide on cytokine production by blood cells of humans vaccinated against plague. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, vol. 16, no. 6, pp. 531–538. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-531-538
7. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях / Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. Ижевск: ООО «Издательство “Принт”», 2018. 336 с. [Ensuring epidemiological well-being in natural foci of plague on the territory of the CIS countries and Mongolia in modern conditions. Ed. by A.Yu. Popova, V.V. Kutyrev. *Izhevsk: Print Publishing House*, 2018. 336 p. (In Russ.)]
8. Самойлова Л.В. Нестерильная фаза иммунитета у животных, привитых вакциной EV // Особо опасные и природно-очаговые инфекции. 1962. С. 134–140. [Samoylova L.V. Non-sterile phase of immunity in animals vaccinated with the EV vaccine. *Osobo opasnye i prirodno-ochagovye infektsii = Particularly Dangerous and Focal Infections*, 1962, pp. 134–140. (In Russ.)]
9. Фирстова В.В., Калмантаева О.В., Горбатов А.А., Кравченко Т.Б., Тюрин Е.А., Бондаренко Н.Л., Дятлов И.А., Караулов А.В. Оценка специфического гуморального и клеточного иммунитета у людей, периодически вакцинирующихся против чумы // Иммунология, аллергология, инфектология. 2015. № 3. С. 62–68. [Firstova V.V., Kalmantaeva O.V., Gorbato A.A., Kravchenko T.B., Tiurin E.A., Bondarenko N.L., Dyatlov I.A., Karaulov A.V. Specific humoral and cellular immunity in humans periodically vaccinated against plague. *Immunologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology*, 2015, no. 3, pp. 62–68. (In Russ.)] doi: 10.14427/jipai.2015.3.62
10. Шуковская Т.Н., Смолькова Е.А., Шмелькова Т.П., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Индуцированная продукция IFN- $\gamma$  и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. Т. 6, № 61. С. 78–83. [Shchukovskaya T.N., Smolkova E.A., Shmelkova T.P., Klueva S.N., Bugorkova S.A. Induced production of IFN- $\gamma$  and IL-4 as an indicator of functional activity human Th1 and Th2 cells after plague vaccination. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and Vaccinal Prevention*, 2011, vol. 6, no. 61, pp. 78–83. (In Russ.)]
11. Bi Y., Zhou J., Yang H., Wang X., Zhang X., Wang Q., Wu X., Han Y., Song Y., Tan Y., Du Z., Yang H., Zhou D., Cui Y., Zhou L., Yan Y., Zhang P., Guo Z., Wang X., Liu G., Yang R. IL-17A produced by neutrophils protects against pneumonic plague through orchestrating IFN- $\gamma$ -activated macrophage programming. *J. Immunol.*, 2014, vol. 192, pp. 704–713. doi: 10.4049/jimmunol.1301687
12. Chromy B.A., Fodor I.K., Montgomery N.K., Luciw P.A., McCutchen-Maloney S.L. Cluster analysis of host cytokine responses to biodefense pathogens in a whole blood ex vivo exposure model (WEEM). *BMC Microbiology*, 2012, vol. 12: 79. doi: 10.1186/1471-2180-12-79
13. Cote C.K., Biryukov S.S., Klimko C.P., Shoe J.L., Hunter M., Rosario-Acevedo R., Fetterer D.P., Moody K.L., Meyer J.R., Rill N.O., Dankmeyer J.L., Worsham P.L., Bozue J.A., Welkos S.L. Protection elicited by attenuated live *Yersinia pestis* vaccine strains against lethal infection with virulent *Y. pestis*. *Vaccines (Basel)*, 2021, vol. 16, no. 9 (2): 161. doi: 10.3390/vaccines9020161
14. Ehrenkranz N.J., Meyer K.F. Studies on immunization against plague. VIII. Study of three immunizing preparations in protecting primates against pneumonic plague. *J. Infect. Dis.*, 1955, no. 96, pp. 138–144. doi: 10.1093/infdis/96.2.138
15. Hamzabegovic F., Goll J.B., Hooper W.F., Frey S., Gelber C.E., Abate G. Flagellin adjuvanted F1/V subunit plague vaccine induces T cell and functional antibody responses with unique gene signatures. *NPJ Vaccines*, 2020, vol. 5, no. 1: 6. doi: 10.1038/s41541-020-0156-y
16. Kummer L.W., Szaba F.M., Parent M.A., Adamovics J.J., Hill J., Johnson L.L., Smiley S.T. Antibodies and cytokines independently protect against pneumonic plague. *Vaccine*, 2008, vol. 26, no. 52, pp. 6901–6907. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.09.063
17. Lin J.S., Kummer L.W., Szaba F.M., Smiley S.T. IL-17 contributes to cell-mediated defense against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *J. Immunol.*, 2011, vol. 186, no. 3, pp. 1675–1684. doi: 10.4049/jimmunol.1003303
18. Lin J.S., Park S., Adamovics J.J., Hill J., Bliska J.B., Cote C.K., Perlin D.S., Amemiya K., Smiley S.T. Affiliations TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$  contribute to F1/LcrV-targeted immune defense in mouse models of fully virulent pneumonic plague. *Vaccine*, 2010, vol. 29, no. 2, pp. 357–362. doi: 10.1016/j.vaccine.2010.08.099
19. Plotkin S.A. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2010, vol. 17, no. 7, pp. 1055–1065. doi: 10.1128/CVI.00131-10
20. Sagiyev Z., Berdibekov A., Bolger T., Merekenova A., Ashirova S., Nurgozhin Z., Dalibayev Z. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 6: e0218366. doi: 10.1371/journal.pone.0218366
21. Tiner B.L., Sha J., Ponnusamy D., Baze W.B., Fitts E.C., Popov V.L., van Lier C.J., Erova T.E., Chopra A.K. Intramuscular immunization of mice with a live-attenuated triple mutant of *Yersinia pestis* CO92 induces robust humoral and cell-mediated immunity to completely protect animals against pneumonic plague. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2015, vol. 22, no. 12, pp. 1255–1268. doi: 10.1128/CVI.00499-15
22. Wang X., Singh A.K., Zhang X., Sun W. Induction of protective antiplague immune responses by self-adjuvanting bionanoparticles derived from engineered *Yersinia pestis*. *Infect Immun.*, 2020, vol. 88, no. 5: e00081-20. doi: 10.1128/IAI.00081-20
23. WHO. Correlates of vaccine-induced protection: methods and implications. Geneva: WHO, 2013. 65 p.

24. Williamson E.D., Flick-Smith H.C., Waters E., Miller J., Hodgson I., Le Butt C.S., Hill J. Immunogenicity of the rF1+rV vaccine for plague with identification of potential immune correlates. *Microb. Pathog.*, 2007, vol. 42, no. 1, pp. 11–21. doi: 10.1016/j.micpath.2006.09.003
25. Zauberman A., Cohen S., Levy Y., Lazar S., Velan B., Shafferman A., Flashner Y., Mamroud E. Neutralization of *Yersinia pestis*-mediated macrophage cytotoxicity by anti-LcrV antibodies and its correlation with protective immunity in a mouse model of bubonic plague. *Vaccine*, 2008, vol. 26, no. 13, pp. 1616–1625. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.01.033
26. Zvi A., Rotem S., Zauberman A., Elia U., Aftalion M., Bar-Haim E., Mamroud E., Cohen O. Novel CTL epitopes identified through a *Y. pestis* proteome-wide analysis in the search for vaccine candidates against plague. *Vaccine*, 2017, vol. 35, no. 44, pp. 5995–6006. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.09

---

**Авторы:**

**Ключева С.Н.**, к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Бугоркова С.А.**, д.м.н., зав. отделом иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия;

**Каштанова Т.Н.**, младший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», г. Саратов, Россия.

**Authors:**

**Klyueva S.N.**, PhD (Biology), Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Bugorkova S.A.**, PhD, MD (Medicine), Head of the Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

**Kashtanova T.N.**, Junior Researcher, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation.

---

Поступила в редакцию 20.05.2021  
Принята к печати 08.11.2021

Received 20.05.2021  
Accepted 08.11.2021