

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

Клюева С.Н.,

Бугоркова С.А.,

Каштанова Т.Н.

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

**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

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 2×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , $2,5 \times 10^4$ КОЕ и на 21-е сутки заражали *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD₅₀. Иммуногенность рассчитывали по методу Кербера и определяли ImD₅₀. Добровольцы – 20 человек, впервые привитые вакциной чумной живой и 20 человек, не прививавшиеся от чумы. Продукцию цитокинов определяли на анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, USA) в крови у мышей перед заражением *Y. pestis* 231 на 14-е и 21-е сутки после вакцинации, у людей – до, через 1, 6 и 12 месяцев после вакцинации. У иммунизированных мышей отмечено достоверное повышение (в 2,2 раза) индуцированной продукции IFN- γ и умеренное увеличение концентрации TNF- α , IL-10 и IL-17A на 14-е сутки иммуногенеза. Выявлена высокая корреляционная связь между показателем выживаемости животных и уровнем антиген- / митоген-индуцированной продукции IFN- γ ($r=0,94$, $p=0,039$), как на 14-е, так и 21-е сутки, а также заметная связь с уровнем продукции IL-10 и IL-17A на 14-е сутки иммуногенеза. У добровольцев через месяц после прививки отмечено значимое увеличение к 6 месяцу ($p<0,05$) уровней IFN- γ , TNF- α , IL-10, IL-17A, хотя только для IFN- γ 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-е и 21-е сутки можно считать IFN- γ 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- γ и IL-17A благоприятным прогностическим маркером иммунологической эффективности вакцины в период с 6-го по 12-й месяц наблюдения.

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

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 NIIEG, and assess dynamics changes in select markers of plague vaccinated subjects. BALB / c mice were immunized with *Y. pestis* EV at dose of 2×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , 2.5×10^4 CFU, and on day 21 they were challenged with *Y. pestis* 231 at a dose of 400 LD₅₀. Immunogenicity was calculated by the Kerber method and ImD₅₀ 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, 1, 6 and 12 months after vaccination. The immunized mice showed a significant increase (by 2.2 times) in the induced production of IFN- γ and a moderate increase in the concentration of TNF- α , 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- γ 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- γ , TNF- α , IL-10, IL-17A, although only for IFN- γ and IL-17A, the persistence of induced production was noted at a fairly high level for up to a year. Thus, IFN- γ 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- γ 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.

1 ВВЕДЕНИЕ

2 Существует ключевой критерий профилактической
3 (эпидемиологической) эффективности вакцинации – это снижение уровня
4 заболеваемости среди вакцинированного контингента. Однако, для чумы
5 такой критерий не применим, так как вспышки этой болезни в современных
6 условиях носят спорадический характер [2]. Внесенная в Национальный
7 календарь¹ прививок по эпидемическим показаниям вакцина чумная живая
8 (ВЧЖ), используемая для профилактики чумы, согласно инструкции по
9 применению, обеспечивает защиту в течение 6-12 месяцев. Но отсутствие
10 четких данных относительно эффективности вакцины в период между 6-м и
11 12-м месяцем затрудняет принятие управленческих решений о применении
12 ВЧЖ в очередном эпидемиологическом сезоне [7].

13 В настоящее время для целого ряда вакцин против инфекций, имеющих
14 широкое распространение в популяции, установлены уровни специфических
15 антител, обеспечивающие надежную защиту от патогенов [3]. В отношении
16 ВЧЖ, несмотря на более чем полувековую историю ее применения, по сей
17 день не существует критериев оценки вакцинации против чумы как
18 профилактического мероприятия, в связи с отсутствием случаев массового
19 заболевания людей чумой. Попытки определения «защитного титра антител»
20 для ВЧЖ в современных условиях, позволили считать таковым титр антител к
21 капсульному антигену F1 *Y. pestis* в диапазоне 1:160 и выше, причем было
22 отмечено, что первичная вакцинация приводит к формированию и
23 поддержанию такого уровня специфических антител лишь в период от 1-го до
24 4-х месяцев [21]. В тоже время, в экспериментальных исследованиях

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

25 указывается на отсутствие связи между уровнем специфических антител к
26 антигенам чумного микроба и антиинфекционной резистентностью
27 биомоделей [15, 24, 25], не выявлено прямой корреляции между кратностью
28 применения ВЧЖ и уровнем специфических антител к капсульному антигену
29 (F1) чумного микроба [9]. Определение доступных иммунологических
30 показателей у привитых, позволяющих корректно характеризовать не только
31 иммунологическую эффективность ВЧЖ, но и быть сопоставимыми с
32 эпидемиологической эффективностью мероприятия по специфической
33 профилактике чумы, позволило бы обеспечить наиболее благоприятный
34 режим применения препарата в условиях прогнозируемого на протяжении
35 нескольких лет неблагоприятия по чуме на территории природных очагов этой
36 инфекции.

37 В формировании противочумного иммунитета ведущая роль
38 принадлежит клеточным факторам защиты [4, 5, 10, 23], оцениваемым по
39 изменению функционального состояния клеток иммунной системы и
40 характеристике реакций, ассоциированных с Th1-, Th2- клеточным ответом
41 цитокинов, поэтому адекватный подход к поиску биомаркеров (коррелятов
42 защиты) поствакцинального иммунитета даст возможность определить среди
43 комплекса оценочных критериев тот необходимый минимум, позволяющий
44 наиболее достоверно судить об эпидемиологической эффективности
45 вакцинации контингента-риска.

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

50 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

51 Исследования проводили с вакцинным *Y. pestis* EV НИИЭГ и
52 вирулентным *Y. pestis* 231 штаммами, полученными из «Государственной

53 коллекции патогенных бактерий» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»). Культуру
54 *Y. pestis* выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2) в течение 48 ч при 28 °С. Из
55 исходной взвеси (10^9 м.к.), приготовленной по стандарту мутности ОСО
56 42-28-59-85П готовили ряд десятикратных разведений для получения рабочих
57 взвесей, которые содержали требуемое количество микробных клеток в 0,2
58 мл.

59 Мыши инбредной линии BALB/c (6–8 недель, масса 18–20 г), как
60 более чувствительной и восприимчивой к возбудителю чумы, были получены
61 из отдела экспериментальных животных с виварием (ФКУЗ РосНИПЧИ
62 «Микроб»). Все манипуляции с животными проводили в соответствии с
63 «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации»,
64 утвержденными Приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003г. и
65 Национальным стандартом РФ ГОСТ Р53434-2009 «Принципы надлежащей
66 лабораторной практики». Эксперименты и эвтаназию животных
67 осуществляли в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с
68 микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-
69 08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности
70 (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Программа
71 экспериментальной работы с животными одобрена Комиссией по биоэтике
72 при ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (протокол № 7 от 29.10.2019г.).

73 В серии предварительных экспериментов была определена летальная
74 доза, вызывающая гибель 50 % биомоделей (LD_{50}) для вирулентного штамма
75 *Y. pestis* 231, которая составила 3–9 КОЕ при подкожном введении бактерий.
76 Мыши BALB/c (200 особей обоего пола) были разделены на четыре опытных
77 и одну контрольную группы по 40 особей в каждой. I группу животных
78 иммунизировали подкожно 2-х суточной культурой *Y. pestis* EV НИИЭГ в
79 концентрации 2×10^2 КОЕ, II группу – 1×10^3 КОЕ, III – 5×10^3 КОЕ, IV – $2,5 \times 10^4$
80 КОЕ. Контрольную группу (V) составили интактные мыши. На 14-е и 21-е

81 сутки после иммунизации проводили заражение мышей подкожным
82 введением вирулентного штамма *Y. pestis* 231 в дозе 400 LD₅₀ (3600 КОЕ).
83 Ежедневно в течение 20 дней после заражения в каждой группе
84 регистрировали павших животных. Гибель от чумы подтверждали наличием
85 чумного микроба в посевах крови на бульон Хоттингера рН 7,2 и органов на
86 агар Хоттингера рН 7,2 с гемолизированной кровью и генцианвиолетом, а
87 также соответствующей патологоанатомической картиной. Посевы
88 инкубировали в течение 5 суток при температуре 28 °С с ежедневным
89 просмотром. Всех выживших животных по окончании наблюдения (21-е
90 сутки) выводили из эксперимента с помощью паров хлороформа.
91 Иммуногенность определяли по показателю ImD₅₀ (средняя иммунизирующая
92 доза), который рассчитывали по методу Кербера по формуле: $\lg \text{ImD}_{50} = \lg D_n - \Delta (\sum L_i - 0,5)$, где D_n – максимальная величина дозы; n – общее число
93 испытанных доз; $\lg D_n$ – логарифм максимальной иммунизирующей
94 (фактической) дозы; L_i – отношение числа животных, выживших при
95 иммунизации данной дозой к общему числу, которым эта доза была введена; i
96 – соответствует номеру дозы, если считать наименьшую из испытанных доз
97 первой; $\sum L_i$ – сумма значений, найденных для всех испытанных доз; Δ –
98 логарифм кратности разведений [1].

100 Продукцию цитокинов в клеточных культурах крови мышей определяли
101 перед заражением на 14-е и 21-е сутки. Для этого гепаринизированную кровь
102 разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640 (ПанЭко Россия),
103 содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ФГУП им. Н.А. Семашко, Россия). В
104 качестве индукторов продукции цитокинов использовали обеззараженную
105 нагреванием при 60 °С в течение 1 ч 20 мин взвесь 2-х суточной культуры *Y.*
106 *pestis* EV НИИЭГ, приготовленную по стандартному образцу мутности ОСО
107 42-28-59-85П в 0,9% растворе натрия хлорида рН 7,2 в концентрации 10⁹
108 м.к./мл [6] и стандартный Т-клеточный митоген конканавалин А (ПанЭко,

109 Россия) в концентрации 15 мкг/мл. Опытные и контрольные образцы
110 инкубировали в течение 24 часов при температуре 37 °С. Клеточные суспензии
111 осаждали центрифугированием при 300 g в течение 15 мин, отбирали
112 супернатанты. Индуцированную продукцию цитокинов определяли методом
113 иммуноферментного анализа с помощью коммерческих наборов для
114 определения IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-17 (Abcam, Англия), IL-10, (eBioscience,
115 Австрия). Исследования выполняли на автоматическом иммуноферментном
116 анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, USA) при длине волны 450 нм.

117 Параллельно проводилась оценка иммунологической эффективности
118 ВЧЖ на добровольцах. В исследовании приняли участие 20 добровольцев,
119 впервые вакцинированных по эпидемическим показаниям ВЧЖ, в группу
120 сравнения (20 человек) вошли лица, не прививавшиеся от чумы. От каждого
121 добровольца было получено информированное согласие. Работа одобрена
122 этическим комитетом при ФГБУ ВО «Саратовский государственный
123 медицинский университет им. В.И. Разумовского» (протокол № 5 от
124 02.02.2016 г.). Вакцинация проводилась ВЧЖ (производитель ФКУЗ
125 «Ставропольский НИПЧИ», серия №1-15) накожным способом в дозе 3×10^9
126 микробных клеток в 0,15 мл в соответствии с инструкцией по применению
127 препарата. Кровь забирали из локтевой вены до вакцинации, а также через 1,
128 6 и 12 месяцев после ее проведения. Для определения продукции цитокинов
129 венозную кровь с гепарином разводили в соотношении 1:4 средой RPMI 1640
130 (ПанЭко Россия), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ФГУП им. Н.А.
131 Семашко, Россия). В качестве индуктора продукции цитокинов использовали
132 стандартный Т-клеточный митоген конканавалин А (ПанЭко, Россия) в
133 концентрации 15 мкг/мл. Продукцию цитокинов определяли методом
134 твердофазного иммуноферментного анализа с помощью коммерческих
135 наборов для определения IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-10 (ЗАО «Вектор-Бест»,

136 Россия), IL-17A (eBioscience, Австрия) на автоматическом
137 иммуноферментном анализаторе «LAZURIT» (Dynex Technologies, USA).

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

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

149 РЕЗУЛЬТАТЫ

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

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

161 С увеличением иммунизирующей дозы отмечено достоверное
162 повышение антиген- / митоген- индуцированной продукции TNF- α , IL-10 и IL-
163 17A на 14-е сутки иммуногенеза по сравнению с показателями в группе

164 контроля ($p < 0,05$) и, напротив, на 21-е сутки иммуногенеза повышение
165 антиген- / митоген- индуцированной продукции IL-17A при иммунизации
166 низкими дозами 2×10^2 и 1×10^3 КОЕ ($p < 0,05$) *Y. pestis* EV НИИЭГ.

167 Заражение иммунизированных биомоделей проводили в период
168 становления иммунологической перестройки (14-е сутки иммуногенеза) и по
169 окончанию формирования специфической защиты на 21-е сутки [8]. Оценку
170 иммуногенной (протективной) активности вакцинного штамма *Y. pestis* EV
171 НИИЭГ при подкожной иммунизации мышей проводили по изменению
172 показателя ImD_{50} .

173 Установлено, что показатели ImD_{50} , полученные при заражении
174 лабораторных животных на 14-е и 21-е сутки, соответствуют требованиям
175 Фармакопейной статьи «Вакцина чумная живая, лиофилизат для
176 приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного
177 нанесения и ингаляций» и не превышают 4×10^4 КОЕ для белых мышей.
178 Иммуногенность вакцинного штамма *Y. pestis* EV была выше при заражении
179 биопробных животных на 21-е сутки. В этом случае показатель ImD_{50} был в
180 2,3 раза ниже, чем при заражении мышей на 14-е сутки ($2,1 \times 10^3$ КОЕ и $4,9 \times 10^3$
181 КОЕ соответственно, $p < 0,05$). Установлено (рисунок), что продолжительность
182 жизни животных в IV группе ($2,5 \times 10^4$ КОЕ) при заражении как на 14-е, так и
183 на 21-е сутки была соответственно в 1,7 и 2,1 раза выше аналогичного
184 показателя в контроле ($p < 0,05$).

185 Полученные данные были проанализированы с помощью
186 корреляционно-регрессионного анализа Пирсона. Выявлена сильная прямая
187 корреляционная связь показателя выживаемости животных в группах с
188 уровнем антиген-индуцированной продукции IFN- γ ($r = 0,94$, $p = 0,039$) при
189 заражении мышей на 14-е сутки после иммунизации, а также с уровнем
190 митоген-индуцированной продукции ($r = 0,90$, $p = 0,045$) при заражении на 21-е
191 сутки.

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

198 У добровольцев через месяц после прививки отмечено повышение
199 показателей митоген-индуцированной продукции всех определяемых
200 цитокинов, но значимо увеличивались к 6 месяцу наблюдения ($p<0,05$) уровни
201 IFN- γ , TNF- α , IL-10 IL-17A, хотя лишь для IFN- γ и IL-17A отмечено
202 сохранение индуцированной продукции этих цитокинов на достаточно
203 высоком уровне до года после прививки (табл. 2).

204 При оценке динамики титров специфических антител к капсульному
205 антигену (F1) *Y. pestis* только у 30 % привитых через месяц после вакцинации
206 специфические антитела регистрировали на уровне 1:80 – 1:160 (табл. 2). К 12-
207 му месяцу после прививки доля лиц с титром специфических антител на
208 уровне 1:80 – 1:320 не превышала 53 %. Однако, медианные значения
209 обратных титров антител к F1 чумного микроба после вакцинации достоверно
210 не отличались во все периоды наблюдения (табл. 2).

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

215 ОБСУЖДЕНИЕ

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

220 Если в отношении инфекций, управляемых с помощью вакцин, четко
221 известен иммунный показатель («защитный титр антител»),
222 характеризующий эффективность защиты от заболевания, то в отношении
223 чумы, к сожалению, не установлены маркеры, коррелирующие с эффективной
224 защитой от инфекции [16]. Поэтому поиск потенциальных коррелятов защиты
225 в модельных экспериментах с использованием животных необходим для
226 определения маркеров эффективности специфической профилактики чумы у
227 человека. Ранее было отмечено, что для эффективной защиты от чумы в
228 равной мере необходима активация гуморального и клеточного звеньев
229 иммунной системы [19, 26]. В настоящее время считается, что активация
230 клеток, ассоциированных с продукцией ряда цитокинов (TNF- α и IFN- γ),
231 обеспечивает значительную протекцию даже в отсутствие формирования
232 специфических антител [14, 17, 18, 19]. ВОЗ для вакцин, в отношении которых
233 не установлены четкие корреляты защиты, предлагает применять
234 методический подход, основанный на оценке каскада цитокиновых реакций,
235 инициируемых в ответ на прививку [13, 20]. Выявление последних на основе
236 иммунологических данных, которые, как было установлено, статистически
237 коррелируют с защитной эффективностью в модельном эксперименте по
238 заражению мышей линии BALB/c, способствовало определению маркеров
239 эффективности специфической профилактики чумы с помощью ВЧЖ.

240 Результаты наших экспериментов по продукции цитокинов в организме
241 вакцинированной *Y. pestis* EV НИИЭГ биомодели свидетельствуют о
242 значительной активации противочумного иммунитета как в фазе инициации
243 иммунного ответа (14-е сутки), так и в период окончательного формирования
244 поствакцинального иммунитета (21-е сутки). Анализ полученных данных
245 позволил выявить ряд особенностей индуцированной продукции изученных
246 цитокинов (IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-10, IL-17A) в зависимости от периода,
247 прошедшего после иммунизации (14-е или 21-е сутки) и иммунизирующей

248 дозы вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Если антиген- / митоген-
249 индуцированная продукция IFN- γ , IL-10 и IL-17A повышалась в среднем
250 соответственно в 2,2, 1,4 и 1,6 раза, начиная с 14-х суток иммуногенеза и далее,
251 то четкое доказательство корреляции концентрации указанных цитокинов с
252 эффективностью защиты лабораторных животных от летальной дозы
253 вирулентного штамма *Y. pestis* 231, продемонстрировано именно для IFN- γ .
254 Полученные результаты согласуются с данными зарубежных исследователей,
255 определивших, что при стимуляции убитыми клетками *Y. pestis* CO92 или
256 *Y. pestis* C12 (*Y. pestis* CO92, F1⁻) спленоцитов мышей BALB/c, подкожно
257 иммунизированных мутантными штаммами *Y. pestis* CO92 и *Y. pestis* KIM6,
258 наибольшую активность демонстрируют IFN- γ , IL-10, IL-17A, IL-2, IL-3, IL-5,
259 IL-6, IL-13, IL-9 [14]. Кроме того, увеличение IFN- γ , IL-10, IL-17A, TNF- α , IL-
260 6, IL-1 β наблюдалось в Т-клетках селезенки мышей, иммунизированных
261 внутримышечно *Y. pestis* CO92 (Δ lpp Δ msbB Δ ail) в ответ на рестимуляцию
262 убитыми нагреванием клетками *Y. pestis* CO92 [22].

263 Установленный факт активации IL-17A и корреляция на 14-е сутки
264 иммуногенеза продукции этого цитокина с выживаемостью, зараженных
265 культурой вирулентного штамма *Y. pestis* 231, мышей также согласуется с
266 данными зарубежных исследователей, доказавших способность IFN- γ и IL-
267 17A обеспечивать защиту мышей линии C57BL/6 от легочной чумы при
268 полном отсутствии защитных антител после заражения вирулентными
269 штаммами *Y. pestis* KIM D27 и *Y. pestis* CO92 [17, 18, 19].

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

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

278 В наших исследованиях с добровольцами, вакцинированными ВЧЖ,
279 отмечено увеличение через 6 месяцев после прививки уровня IL-10 в 4,4 раза,
280 а через 6-12 месяцев – уровней IFN- γ и IL-17A в 3,4, и 2,8 раза соответственно.
281 Полученные данные согласуются с клиническими исследованиями на
282 добровольцах, показавших, что вакцинация субъединичной вакциной на
283 основе химерного белка, объединяющего капсульный (F1) и V антигены
284 чумного микроба и иммунодоминантную часть флагелина *Salmonella enterica*
285 (F1/V/Фл) индуцировала значительное увеличение количества CD4⁺ Т-клеток
286 и изменяла концентрацию IFN- γ , TNF- α , IL-10 на 14 день после второй
287 вакцинации [16].

288 Наши данные по оценке корреляционной связи между уровнем IFN- γ и
289 титром специфических антител к капсульному антигену (F1) *Y. pestis* у
290 добровольцев, соотносятся с данными об отсутствии существенных
291 корреляций между CD4⁺ Т-лимфоцитами, продуцирующими IFN- γ , и
292 специфическими антителами при вакцинации субъединичной вакциной
293 F1/V/Фл [16].

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

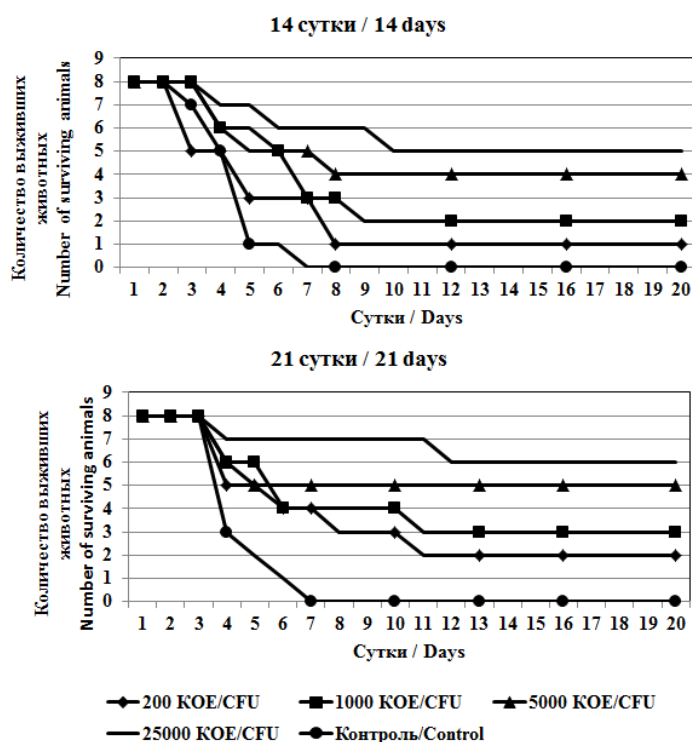
РИСУНКИ

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

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

*Примечание. *P<0,05 различия по сравнению с контролем*

*Note. * P<0,05 compared to control*



ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Индуцированная продукция цитокинов в супернатантах крови мышей линии BALB/с в динамике противочумного ответа *in vitro*

Table 1. Induced production of cytokines in blood supernatants of BALB / c mice in the dynamics of the anti-plague response *in vitro*

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
		M ± m			
IFN- γ	2×10 ² (n=10)	41,7±11,7	75,5±38,4	88,3±49,1	73,2±13,8
	1×10 ³ (n=10)	42,8±10,1	102,1±24,2*	177,2±53,7*	96,7±12,1*
	5×10 ³ (n=10)	98,1±23,3*	67,7±8,7	99,7±26,6	98,2±9,3*
	2,5×10 ⁴ (n=10)	105,1±25,8*	97,7±10,5*	108,1±22,6*	97,7±7,4*
	Контроль (n=10) Control	40,8±11,8	42,6±10,3	53,5±8,8	50,7±16,6
TNF- α	2×10 ² (n=10)	72,2±1,6	73±7,4	74,5±7,1	82,4±6,5
	1×10 ³ (n=10)	71,8±2,6	88,9±6,5*	84,6±3,9	71,4±4,8
	5×10 ³ (n=10)	81,1±1,6*	86,2±3,2*	62,9±3,7	70,1±6,0

	2,5×10 ⁴ (n=10)	78,3±7,1	69,6±5,4	54,9±15,7	90,2±5,4*
	Контроль (n=10) Control	71,0±4,0	67,5±6,0	75,0±9,7	70,9±3,4
IL-4	2×10 ² (n=10)	29,5±2,0*	27,1±2,2*	34,5±3,8	45,7±8,5
	1×10 ³ (n=10)	13,7±1,7*	21,1±0,8*	27,7±2,1*	48,3±3,9
	5×10 ³ (n=10)	25,2±4,2	39,0±3,6	43,5±4,2	59,3±3,4*
	2,5×10 ⁴ (n=10)	21,6±0,8	25,1±0,7*	40,5±3,4	59,3±2,8*
	Контроль (n=10) Control	21,4±1,9	42,4±2,1	39,5±2,2	45,8±1,8
IL-10	2×10 ² (n=10)	84,8±6,1	12,7±0,1*	47,1±4,7*	13,6±0,3
	1×10 ³ (n=10)	69,8±2,2	13,1±0,1*	70,1±2,2	12,6±0,1
	5×10 ³ (n=10)	94,6±7,8*	16,9±1,3*	87,9±3,4	12,1±0,1
	2,5×10 ⁴ (n=10)	77,8±4,9	23,4±0,8*	63,8±1,5	12,5±0,2
	Контроль (n=10) Control	72,9±5,5	10,9±0,1	95,2±1,7	12,1±0,1

IL-17A	2×10 ² (n=10)	9.8±1,4	8,8±0,6	17,6±0,8*	9,6±0,5*
	1×10 ³ (n=10)	9,5±1,8	9,2±1,1	13,5±0,8*	9,2±0,6*
	5×10 ³ (n=10)	13,5±1,3*	11,5±2,3*	8,5±1,6	5,1±0,2
	2,5×10 ⁴ (n=10)	11,5±4,0	10,9±0,7*	6,5±0,5	4,5±0,3
	Контроль (n=10) Control	9,4±1,0	6,5±0,5	8,2±0,7	5,4±0,7

*Примечание. *P<0,05 по сравнению с контролем.*

*Note. *P<0,05 compared to control.*

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 (n=20) Vaccinated volunteers (n=20)	Группа сравнения (n=20) Comparison group (n=20)
		Me (Q25% – Q75%)	
IFN- γ пг/мл 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- α пг/мл 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 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 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 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

МЕТАДАННЫЕ

Клюева Светлана Николаевна – к.б.н., научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», ул. 410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46, 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; [Klyueva Svetlana Nikolaevna, PhD \(Biology\), Research Associate Department Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46, Phone: 8 \(452\) 26-21-31 \(office\), +7\(987\)830-50-75 \(mobile\)., Fax: 8 \(452\) 51-52-12, E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru](#)

Бугоркова Светлана Александровна (Bugorkova Svetlana Aleksandrovna) – д.м.н., заведующая отделом иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005, г. Саратов, Россия

Каштанова Татьяна Николаевна (Kashtanova Tat'yana Nikolaevna) – младший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 410005, г. Саратов, Россия

Полное название статьи: «Выявление коррелятов протекции от *Yersinia pestis* на мышинной модели и оценка возможности применения их в качестве маркеров эффективности вакцинации у людей».

Количество страниц текста - 23, количество рисунков – 1, количество таблиц – 2.

Раздел журнала: Оригинальные статьи.

Дата отправления статьи: 20.05.2021г.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

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

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

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

Авторы:

Клюева 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., заведующая 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

Сокращенное название статьи: Корреляты протекции от *YERSINIA PESTIS*

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

Адрес для переписки: Клюева Светлана Николаевна – ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», ул. 410005, Россия, г. Саратов, ул. Университетская, 46, 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

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](#)

Authors:

[Klyueva S.N., PhD \(Biology\), Researcher, Department Immunology Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation](#)

[Bugorkova S.A., PhD, MD \(Medicine\), Head, Department of Immunology, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation](#)

[Kashtanova T.N., Junior Researcher, Department Immunology Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation](#)

The abbreviated title of the article: Correlates of protection from *YERSINIA PESTIS*

Keywords: *Yersinia pestis*, live plague vaccine, cytokines, protection, immunogenicity, anti-plague immunity

Address for correspondence: Klyueva Svetlana N., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", 410005, Russian Federation, Saratov, Universitetskaya str., 46, Phone: 8 (452) 26-21-31 (office), +7(987)830-50-75 (mobile). Fax: 8 (452) 51-52-12, E-mail: klyueva.cvetlana@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском языке	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее DOI
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	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., Tatochenko 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	https://doi.org/10.15690/pf.v11i4.1057

	эффективности вакцинации: основные подходы и спорные вопросы // Педиатрическая фармакология. 2014. Т. 11, №4. С. 8–15.	and issues. <i>Pediatricheskaya farmakologiya = Pediatric pharmacology</i> , 2014, vol. 11, no. 4, pp. 8–15. (in Russ.)	
4	Бугоркова С.А., Шуковская 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., Mikishis 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., Kutyrev 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. <i>Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika = Epidemiology and vaccinal prevention</i> , 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., Щербакова 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., Khasykova 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. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology</i> , 2018, vol. 20, no. 2, pp. 241–250. (in Russ.)	doi:10.15789/1563-0625-2018-2-241-250

6	Клюева С.Н., Шмелькова Т.П., Щуковская 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., Schukovskaya T.N. Influence of CpG ODN 2006 oligodeoxynucleotide on cytokine production by blood cells of humans vaccinated against plague. <i>Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology</i> , 2014, vol. 16, no. 6, pp. 531-538. (in Russ.)	doi: 10.15789/1563-0625-2014-6-531-538
7	Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Зенкевич Е.С., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Карнаухов И.Г., Попов Н.В., Топорков В.П., Кузнецов А.А., Гражданов А.К., Матросов А.Н., Куклев Е.В., Слудский А.А., Ерошенко Г.А., Бугоркова С.А., Краснов Я.М., Удовиченко С.К. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. ООО «Принт», Ижевск, 2018. 336 с.	Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Zenkevich E.S., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakschina N.D., Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Karnaukhov I G., Popov N.V., Toporkov V.P., Kuznetsov A.A., Grazhdanov A.K., Matrosov A.N., Kuklev E.V., Sludsky A.A., Eroshenko G.A., Bugorkova S.A., Krasnov Ya.M., Udovichenko S.K. Ensuring epidemiological well-being in natural foci of plague on the territory of the CIS countries and Mongolia in modern conditions. LLC Print, Izhevsk, 2018.336 p. doi: 10.23648 / PRNT.2445	doi: 10.23648/PRNT.2445
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. <i>Osobo opasnye i prirodno-ochagovye infektsii = Particularly dangerous and focal infections</i> . 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.,	Firstova V.V., Kalmantaeva O.V., Gorbатов A.A., Kravchenko T.B., Tjurin E.A., Bondarenko N.L., Dyatlov I.A., Karaulov A.V. Specific humoral and	doi: 10.14427/jipai.2015.3.62

	Караулов А.В. Оценка специфического гуморального и клеточного иммунитета у людей, периодически вакцинирующихся против чумы // Иммунология, аллергология, инфектология. 2015. № 3. С. 62–68.	cellular immunity in humans periodically vaccinated against plague. Immunologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology, 2015, no. 3, pp. 62–68. (in Russ.)	
10	Щуковская Т.Н., Смолькова Е.А., Шмелькова Т.П., Ключева С.Н., Бугоркова С.А. Индуцированная продукция IFN- γ и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2011. 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- γ 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(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-g-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		doi: 10.1186/1471-2180-12-79

	vivo exposure model (WEEM). BMC Microbiology, 2012, vol.12:79.		
13	Correlates of vaccine-induced protection: methods and implications. WHO/IVB/13.01. World Health Organization Department of Immunization, Vaccines and Biologicals CH-1211 Geneva 27, Switzerland. 2013, 65 p.		
14	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 <i>Yersinia pestis</i> vaccine strains against lethal infection with virulent <i>Y. pestis</i> . Vaccines (Basel), 2021, vol.16, no. 9(2), p. 161.		doi: 10.3390/vaccines9020161
15	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
16	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(1):6.		doi: 10.1038/s41541-020-0156-y

17	Kummer L.W., Szaba F.M., Parent M.A., Adamovicz J.J., Hill J., Johnson L.L, Smiley S.T. Antibodies and cytokines independently protect against pneumonic plague. <i>Vaccine</i> , 2008, vol. 26, no. 52, pp. 6901–6907.		doi:10.1016/j.vaccine.2008.09.063
18	Lin J.-S., Kummer L.W., Szaba F.M., Smiley S.T. IL-17 contributes to cell-mediated defense against pulmonary <i>Yersinia pestis</i> infection. <i>J. Immunol.</i> , 2011, vol.186 (3), pp.1675–1684.		doi: 10.4049/jimmunol.1003303
19	Lin J.S., Park S., Adamovicz J.J., Hill J., Bliska J.B., Cote C.K., Perlin D.S., Amemiya K., Smiley S.T. Affiliations TNF α and IFN γ contribute to F1/LcrV-targeted immune defense in mouse models of fully virulent pneumonic plague. <i>Vaccine</i> , 2010, vol. 29, no. 2, pp. 357–362.		doi:10.1016/j.vaccine.2010.08.099
20	Plotkin S.A. Correlates of protection induced by vaccination. <i>Clinical and vaccine immunology</i> , 2010, vol. 17, no. 7, pp. 1055–1065.		doi:10.1128/CVI.00131-10
21	Sagiyev Z., Berdibekov A., Bolger T., Merekenova A., Ashirova S., Nurgozhin Z., Dalibayev Z. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan,		doi: 10.1371/journal.pone.0218366

	2014–2015. PLoS ONE, 2019, vol.14, no. 6. e0218366.		
22	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 <i>Yersinia pestis</i> CO92 induces robust humoral and cell-mediated immunity to completely protect animals against pneumonic plague. <i>Clinical and Vaccine Immunology</i> , 2015, vol. 22, no. 12, pp. 1255–1268.		doi: 10.1128/CVI.00499-15
23	Wang X., Singh A.K., Zhang X., Sun W. Induction of protective antiplague immune responses by self-adjuvanting bionanoparticles derived from engineered <i>Yersinia pestis</i> . <i>Infect Immun.</i> , 2020, vol. 88(5): e00081-20.		doi:10.1128/IAI.00081-20
24	Williamson E.D., Flick-Smith H.C., Waters E., Miller J., Hodgson I., Butt C.S.Le., Hill J. Immunogenicity of the rF1+rV vaccine for plague with identification of potential immune correlates. <i>Microb. Pathog.</i> , 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 <i>Yersinia</i>		doi: 10.1016/j.vaccine.2008.01.033

	<i>pestis</i> - mediated macrophage cytotoxicity by anti-LcrV antibodies and its correlation with protective immunity in a mouse model of bubonic plague. <i>Vaccine</i> , 2008, vol. 26, no. 13, pp. 1616–1625.		
26	Zvi A., Rotem S., Zauberman A., Elia U., Aftalion M., Bar-Haim E., Mamroud E., Cohen O. Novel CTL epitopes identified through a <i>Y. pestis</i> proteome-wide analysis in the search for vaccine candidates against plague. <i>Vaccine</i> , 2017, vol. 35(44), pp. 5995–6006.		doi: 10.1016/j.vaccine.2017 .05.092