

Прямая детекция антител к *Yersinia pestis* с использованием стеклянных микроструктурных волноводов как экспресс-метод оценки сероконверсии у привитых против чумы лиц

О. М. Кудрявцева^{*1}, Ю. С. Скибина², В. А. Кожевников¹, С. А. Бугоркова¹,
М. В. Чайников², А. Ю. Грязнов², Д. Е. Глухов², С. С. Коннова²,
А. А. Шувалов², Т. Н. Щуковская¹

¹ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора,
г. Саратов, Россия

²ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла» г. Саратов, Россия

Резюме

Актуальность. В рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия на территории природных очагов чумы Российской Федерации по эпидемиологическим показаниям проводится вакцинация населения против этой инфекции. Отсутствие единой схемы оценки эффективности вакцинации диктует необходимость разработки универсальных экспресс-методов, позволяющих проводить скрининговые исследования противочумного иммунитета, в том числе в полевых условиях. **Цель.** Оценить эффективность экспресс-метода прямой детекции антител к *Yersinia pestis* в биологическом материале с использованием стеклянных микроструктурных волноводов с поллой сердцевинной (СМВ ПС) в качестве иммуносенсоров при изучении динамики сероконверсии у привитых вакциной чумной живой людей. **Материалы и методы.** В исследовании взяты образцы сыворотки крови от 30 лиц, привитых по эпидемическим показаниям вакциной чумной живой (ВЧЖ), от 30 добровольцев, не вакцинированных и не имеющих контакта с возбудителем чумы в анамнезе. Выявление специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба в сыворотках проводили параллельно методом ИФА и с применением оптических иммуносенсоров, полученных путем введения реакционной смеси специфического антигена F1 с анализируемым образцом сыворотки крови в структурную оболочку СМВ ПС. **Результаты и обсуждение.** Проведена оценка возможности использования метода прямой детекции антител с помощью СМВ ПС в разные временные интервалы согласно получению сывороток крови в рамках мониторинга за вакцинированными лицами из числа жителей Прикаспийского песчаного природного очага чумы. Выявлено наличие специфических антител к белку F1 в сыворотке крови привитых волонтеров как с помощью ИФА, так и с применением СМВ ПС. Отмечена быстрота способа прямой детекции АТ (максимум 2 минуты на один тест), отсутствие необходимости применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов и дополнительных затрат на трудоёмкую пробоподготовку. **Заключение.** Метод прямой детекции антител с использованием стеклянных микроструктурных волноводов является перспективным для внедрения в перечень экспресс-методов оценки иммунологической эффективности противочумной вакцинации.

Ключевые слова: специфическая профилактика чумы, детекция антител, стеклянные микроструктурные волноводы с поллой сердцевинной

Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Кудрявцева О. М., Скибина Ю. С., Кожевников В. А. и др. Прямая детекция антител к *Yersinia pestis* с использованием стеклянных микроструктурных волноводов как экспресс-метод оценки сероконверсии у привитых против чумы лиц. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022;21(6): 89–96. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-89-96>

Работа выполнена в рамках НИР по Распоряжению Правительства РФ № 2403-Р от 12.10.2019 г. (номер государственного учета AAAA-A20-120012090032-0)

Direct Detection of Antibodies to *Yersinia pestis* Using Glass Microstructural Waveguides as an Express Method for Assessing Seroconversion in Individuals Vaccinated against Plague

OM Kudryavtseva^{**1}, YuS Skibina², VA Kozhevnikov¹, SA Bugorkova¹, MV Chainikov², AYU Gryaznov², DE Glukhov²,
SS Konnova², AA Shuvalov², TN Shchukovskaya¹

^{*} Для переписки: Кудрявцева Ольга Михайловна, к. б. н., старший научный сотрудник отдела иммунологии ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 410005, Россия, Саратов, ул. Университетская, 46. +7 (8452) 26-21-31 (служебный), +7 (905) 369-71-99, факс +7 (8452) 51-52-12, 3030774@mail.ru; rusrapi@microbe.ru (служебный). ©Кудрявцева О. М. и др.

^{**} For correspondence: Kudryavtseva Olga M., Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Officer at the Department of Immunology FGHI Federal Government Health Institution Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Rospotrebnadzor, 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russia. +7 (8452) 26-21-31, +7 (905) 369-71-99, fax +7 (8452) 51-52-12, 3030774@mail.ru; rusrapi@microbe.ru. ©Kudryavtseva OM, et al.

¹ Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» Rospotrebnadzor, Saratov, Russia² LLC Scientific and Production Enterprise «Nanostructural Glass Technology», Saratov, Russia**Abstracts**

Relevance. As part of ensuring sanitary and epidemiological well-being, in the territory of natural plague foci of the Russian Federation, according to epidemiological indications, the population is vaccinated against this infection. The lack of a unified scheme for evaluating the effectiveness of vaccination dictates the need to develop universal express methods that allow screening studies of anti-plague immunity, including in the field. **Aims.** To evaluate the effectiveness of the express method for the direct detection of antibodies to *Yersinia pestis* in biological material using microstructural glass waveguides with a hollow core (MGW HC) as immunosensors in studying the dynamics of seroconversion in people vaccinated with the plague live people. **Materials and methods.** In the study, blood serum samples were taken from 30 individuals vaccinated according to epidemic indications with the live plague vaccine (PLV) and 30 volunteers who were not vaccinated and did not have a history of contact with the plague agent. **Results.** An assessment was made of the possibility of using the method of direct detection of antibodies using MGW HC at different time intervals according to the receipt of blood sera in the framework of monitoring vaccinated individuals from among the inhabitants of the Caspian sandy natural plague focus. The presence of specific antibodies to the F1 protein in the blood serum of vaccinated volunteers was revealed both with the help of ELISA and with the use of MGW HC. The speed of the method of direct detection of antibodies (maximum 2 minutes per test), the absence of the need to use species-specific secondary antibodies, enzymes and substrates and additional costs for laborious sample preparation were noted. **Conclusions.** The method of direct detection of antibodies using glass microstructural waveguides is promising for introduction into the list of express methods for assessing the immunological effectiveness of anti-plague vaccination.

Keywords: specific prevention of plague, detection of antibodies, glass microstructural waveguides with a hollow core
No conflict of interest declared.

For citation: Kudryavtseva OM, Skibina YuS, Kozhevnikov VA, et al. Direct detection of antibodies to *Yersinia pestis* using glass microstructural waveguides as an express method for assessing seroconversion in individuals vaccinated against plague. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2022;21(6): 89–96 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2022-21-6-89-96>

The work was carried out as part of the research work according to the Decree of the Government of the Russian Federation № 2403-R dated October 12, 2019 (state registration number AAAA-A20-120012090032-0)

Введение

Многофакторность угроз возникновения и распространения особо опасных инфекций (ООИ) диктует необходимость комплексного подхода к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения. В современных условиях одним из эффективных методов профилактики чумы является своевременная вакцинация групп риска по заражению этой инфекцией. Одной из проблем специфической профилактики чумы является недолговременность защиты, обеспечиваемой вакциной живой чумной (ВЧЖ), и по этой причине существует необходимость ежегодного проведения вакцинальной кампании среди групп риска в ситуации энзоотической активности в природном очаге чумы.

Традиционным методом в арсенале средств оценки уровня иммунитета против чумы является серологический мониторинг, в ходе которого в биоматериале выявляют специфические антитела с помощью иммуноферментного или иммунофлуоресцентного анализов. Для серологического мониторинга за привитыми ВЧЖ лицами используется российский коммерческий препарат – тест-система иммуноферментная для выявления антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS».

В последние годы появляется всё больше работ, посвящённых изучению кинетики образования комплексов антиген-антитело без использования

хромогенных субстратов или иммунофлуоресцентных меток [1], развивается концепция биосенсоров – портативных устройств, позволяющих проводить динамическое наблюдение за формированием иммунных комплексов. Нами был разработан способ определения специфических антител в режиме реального времени с использованием стеклянных микроструктурных волноводов с поллой сердцевинной (СМВ ПС) в качестве оптических иммуносенсоров [2]. В структурной оболочке СМВ ПС анализируемые антитела избирательно связываются со специфическими для антитела антигенными молекулами, в результате чего происходит изменение положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания волновода с поллой сердцевинной. Кроме того, предложенный способ отличается быстротой и возможностью прямой детекции антител и других биомолекул и их конъюгатов без применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов.

Цель исследования – оценить эффективность экспресс-метода прямой детекции антител к *Yersinia pestis* в биологическом материале с использованием СМВ ПС в качестве иммуносенсоров при изучении динамики сероконверсии у привитых вакциной чумной живой людей.

Материалы и методы

Работа проводилась в рамках исследования, утвержденного локальным Этическим комитетом

ГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 5 от 02.02.2016 г.; регистрационный номер IRB00005197. Анкетирование, анализ медицинской документации (форма № 025/у) и сбор клинического материала проводили на основании письменного информированного согласия добровольцев.

Индикаторные группы

В исследовании приняли участие работники специализированных противочумных учреждений, ежегодно прививаемые против чумы в соответствии с Календарем профилактических прививок по эпидемическим показаниям*. Группы сравнения составляли 30 волонтеров из числа жителей г. Элисты, ранее не вакцинированных ВЧЖ и не входящих в группу риска по контакту с возбудителем или переносчиками чумы.

Иммунизацию вакциной живой чумной проводили препаратом ВЧЖ (ЛСР-005759/08) производства «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Россия), серия 2–16.

Забор крови из локтевой вены осуществляли в пробирки с активатором свертывания (Vacutest KIMA, Италия). В соответствии с протоколом исследования кровь забирали до вакцинации, а также через 1, 6 и 12 месяцев после прививки.

Выделение и очистку белка капсульного антигена (F1) чумного микроба осуществляли из вакцинного штамма *Yersinia pestis* линии НИИЭГ (Государственная коллекция патогенных бактерий Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» согласно описанному ранее способу [3].

Детекцию специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба проводили с помощью тест-системы «ИФА-АТ-Ф1 YERSINIA PESTIS» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Россия), используя иммуноферментный анализатор Stat Fax-3200 (Awareness Technology, США) и методом прямого определения специфических антител в исследуемых образцах сыворотки крови в режиме реального времени [2]. В работе использовали СМВ ПС производства ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла» г. Саратов [4]. Для детекции специфических антител в исследуемых образцах применяли водный раствор антигена F1 вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ в концентрации 5 мкг/мл, который смешивали с исследуемыми образцами сывороток от вакцинированных или не вакцинированных ВЧЖ лиц из контрольной группы, разведенными фосфатно-солевым буфером (PBS) в соотношении 1:400. Для детекции показателя присутствия специфического

комплекса антиген-антитело в указанном образце его вносили в структурную оболочку СМВ ПС, соединенного с источником излучения. Результаты регистрировали при помощи оптической схемы и спектроанализатора Ocean Optics (США) со встроенным программным обеспечением. Полученные результаты обрабатывались при помощи математического аппарата, встроенного в программное обеспечение спектроанализатора.

Результаты и обсуждение

Анализ данных многолетнего иммунологического мониторинга уровня специфических антител к F1 *Y. pestis* у привитых против чумы контингентов показал, что фаза стабилизации выработки антител, или стационарный период, в течение которого титр специфических антител к F1 *Y. pestis* остаётся стабильно высоким, составляет 3–6 месяцев после вакцинации. В предыдущих работах установлено, что антительный ответ на ВЧЖ характеризуется вариабельностью и регистрируется в широком диапазоне – от 4 до 85% привитых в зависимости от кратности предыдущих вакцинаций [5,6].

Изучение показателей специфического антительного ответа выявило повышение доли лиц с более высокими титрами специфических антител к капсульному антигену F1 *Y. pestis* в сыворотке крови волонтеров, привитых ВЧЖ многократно (пять и более раз). Так, при первой иммунизации добровольцев выраженный гуморальный ответ (титр специфических антител к F1 чумного микроба 1:160 и выше) наблюдался только у 53% привитых. При повторной вакцинации сероконверсия наблюдалась уже у 71%, а у привитых 5 и более раз – более чем у 80% вакцинированных независимо от срока наблюдения [7]. Изменения в иммунном ответе в зависимости от количества прививок частично объясняется феноменом «иммунологической памяти», при котором повторное введение антигена приводит к заметному увеличению выработки антител по сравнению с первичным ответом и антитела вторичного иммунного ответа циркулируют в крови более продолжительное время [8].

Учитывая выявленные особенности формирования и динамики антительного ответа, в эксперименте по тестированию прямого метода обнаружения антител с помощью СМВ ПС были отобраны сыворотки привитых ВЧЖ пять и более раз через 6 месяцев (период максимального антителообразования) после иммунизации. Детекцию специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микроба в сыворотках проводили параллельно методом ИФА и с применением СМВ ПС. Контролем служили сыворотки невакцинированных лиц. Титры специфических антител к F1 на уровне или выше диагностического (1:80–1:1280) отмечали у 90% привитых. В контрольной группе непривитых людей антитела обнаружены не были (табл. 1).

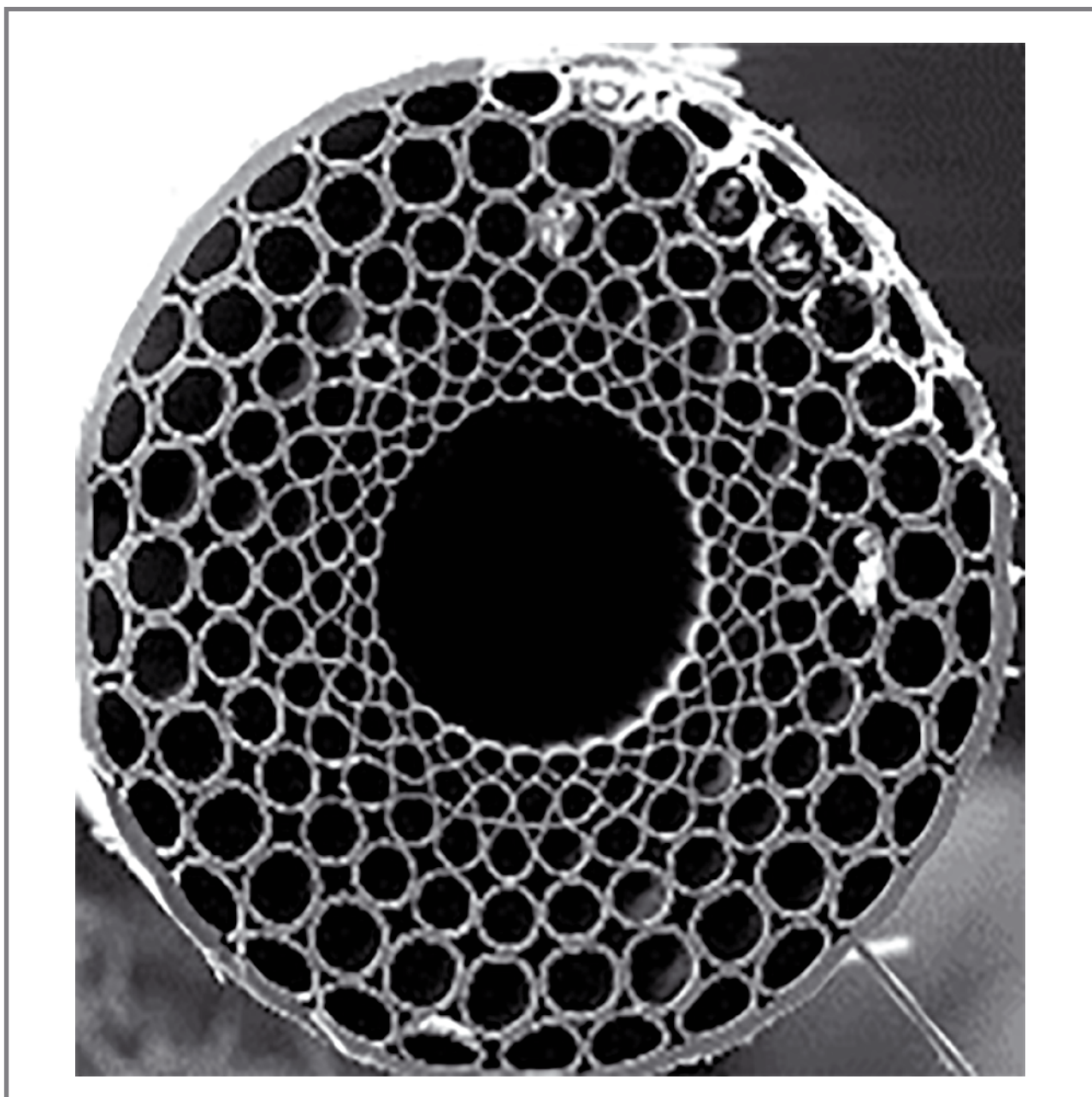
* Календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям (приложение №2 к приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка проведения профилактических прививок» от 6 декабря 2021 г. N 1122Н

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

Таблица 1. Процентное соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных ВЧЖ, через 6 месяцев после прививки и у лиц контрольной группы
Table 1. Percentage of antibody titers to *Y. pestis* F1 in people vaccinated with HPV 6 months after vaccination and in the control group

Группы	Обратные значения титров антител к капсульному антигену (F1) <i>Y. pestis</i> / values of antibody titers for capsular antigen (F1) <i>Y. pestis</i>					
	<40	80*	160	320	640	1280
	Количество людей с зарегистрированными значениями титров Number of people with registered title values					
Опытная группа Experimental group (n = 30)	3 (10%)	7 (23,3%)	6 (20%)	11 (36,7%)	3 (10%)	0
Контрольная группа (не вакцинированные) Control group (unvaccinated) (n = 30)	30 (100%)	0	0	0	0	0

Рисунок 1. Спектр микроструктурного волновода (на вставке – поперечное сечение волновода)
Figure 1. Spectrum of a microstructural waveguide (on the insert is the cross section of the waveguide)



Для количественного определения специфических антител в стандартных иммунологических методиках используют геометрический ряд разведений анализа (сывороток крови). Оптимальное разведение сыворотки, содержащее в своем составе специфические антитела в среднем, составляет 1:100–1:800. В этом диапазоне существует прямо пропорциональная связь между показателем оптической плотности и значением титра антител данной сыворотки [8]. С учётом изложенного, в экспериментах по использованию СМВ ПС в качестве иммуносенсоров нами был проведён подбор оптимальной концентрации исследуемой сыворотки и белка F1, полученного путем фракционирования культуральной жидкости вакцинного штамма *Y. pestis* EV с осаждением целевого белка в изoeлектрической точке. Установлено, что прямая детекция антител СМВ ПС проходит с наиболее высокой специфичностью при взаимодействии опытной или контрольной сывороток, разведённых PBS в соотношении 1:400 с белком F1 в концентрации 5 мкг/мл.

Уникальные свойства СМВ ПС позволяют на их основе создать компактные, высокоэффективные и лёгкие в использовании волоконные устройства.

При длине в 6 см и диаметре полый сердцевинны 180 мкм для проведения анализа необходимо всего лишь 10–15 мкл жидкости, что существенно меньше тех объёмов, которые необходимы для анализа в лунках планшета при ИФА. Волокна СМВ ПС, в которых благодаря структурной оболочке реализована возможность получения оптических частотных гребёнок, позволяют комбинировать методы рефрактометрии и спектроскопии (рис. 1).

Специфический комплекс, образованный смешиванием молекул антигена с опытными образцами сыворотки от людей, иммунизированных ВЧЖ, детектировали в массиве структурной оболочки СМВ ПС в режиме реального времени путём измерения оптического спектра, зондирующего связывание аналитов. По мере образования комплексов антиген-антитело измеряли новые положения локальных максимумов спектра пропускания волновода, обусловленные ростом светорассеяния внутри сердцевинны, заполненной образцом, и осуществляли построение линейной зависимости положения локальных максимумов спектра пропускания волновода от количества образованных комплексов антиген-антитело.

Рисунок 2. Спектр пропускания СМВ ПС с полый сердцевинной, заполненной реакционной смесью. А – смесь белка F1 и контрольной сыворотки, не содержащей специфические антитела к F1; Б – смесь белка F1 и опытной сыворотки

Figure 2. Transmission spectrum of an MGH CW with a hollow core filled with the reaction mixture. Transmission spectrum of an MCF with a hollow core filled with the reaction mixture. A – a mixture of F1 protein and control serum that does not contain specific antibodies to F1. A – a mixture of F1 protein and control serum that does not contain specific antibodies to F1

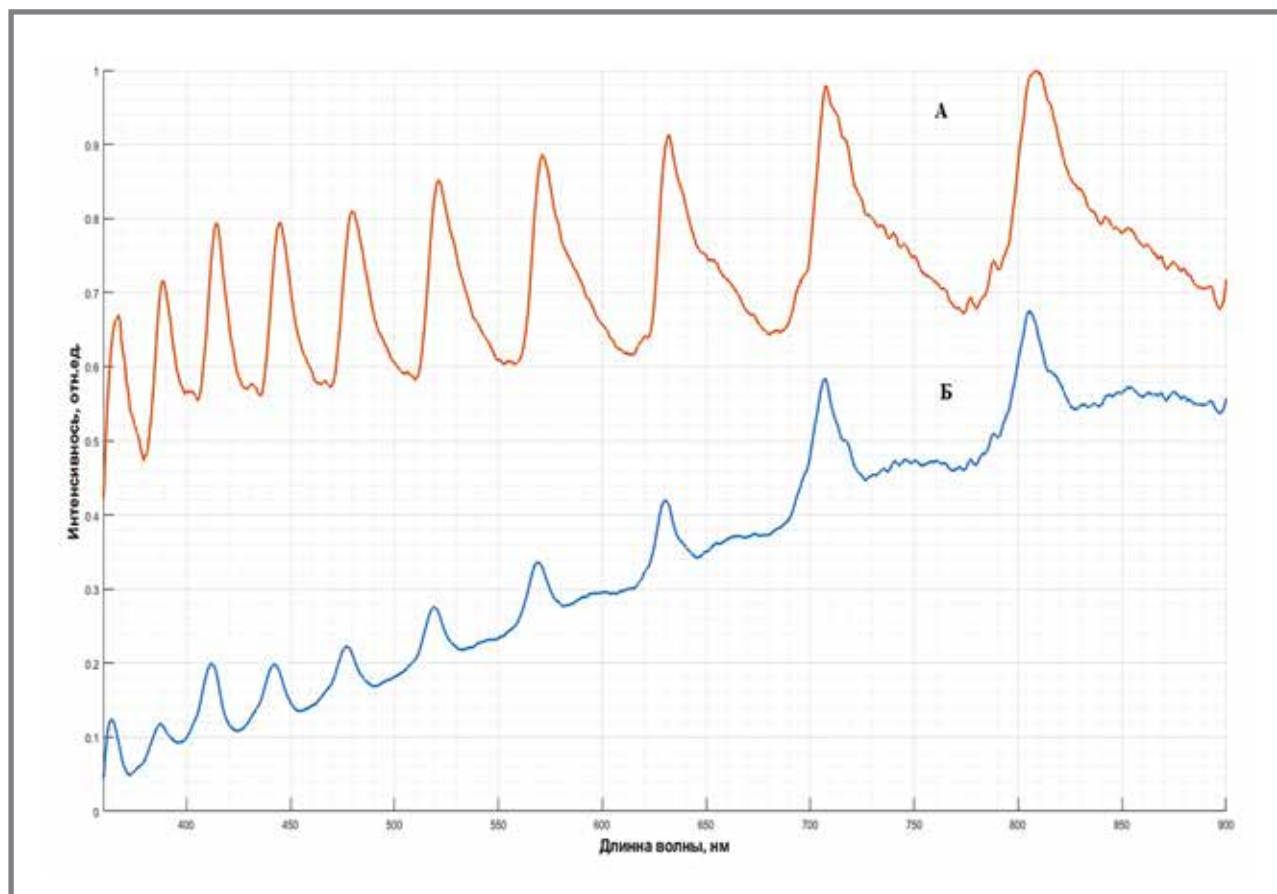
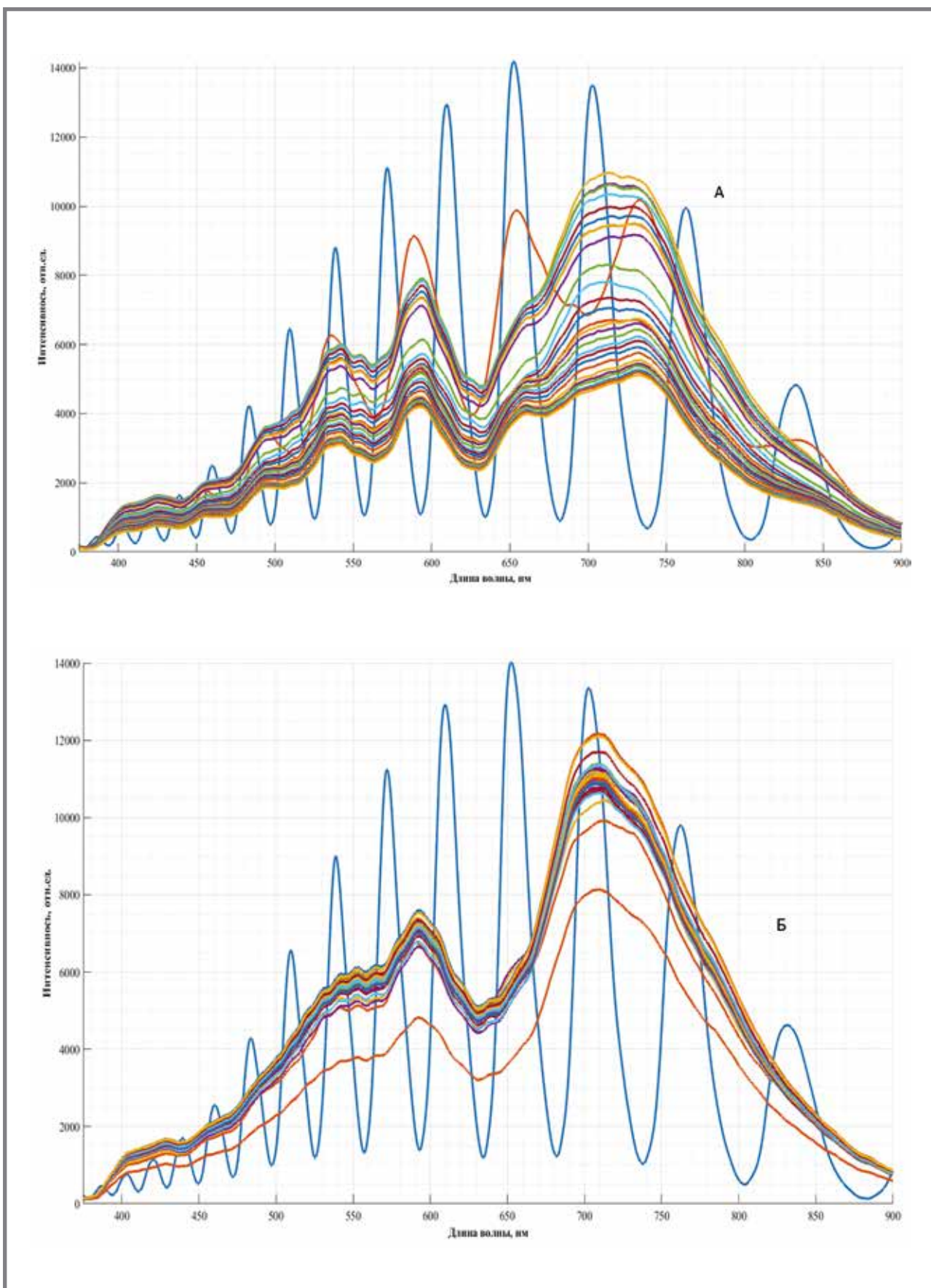


Рисунок 3. Изменение в режиме реального времени положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания СМВ ПС, заполненного реакционной смесью белка F1 и опытной сыворотки, содержащей анализируемые антитела (А) и контрольной сыворотки, не содержащей анализируемые антитела (Б)
Figure 3. Real-time change in the position and shape of local maxima in the transmission spectrum of the MGH CW filled with the reaction mixture of F1 protein and experimental serum containing analyzed antibodies (A) and control serum without analyzed antibodies (B)



Образование иммунных комплексов в опытной пробе, содержащей сыворотку от вакцинированного ВЧЧ человека, приводило к увеличению светорассеяния и, как следствие, к падению интенсивности и характерному изменению спектра (рис. 2Б). В контрольной пробе от не вакцинированного против чумы волонтера комплекс антиген-антитело не образовывается, и на графике наблюдается максимальная интенсивность спектра вследствие минимального светорассеяния (рис. 2А).

Для установления оптимального количества времени, необходимого для детектирования комплекса антиген-антитело, была изучена динамика изменения оптического спектра, зондирующего связывание анализатов. Нами обнаружено, что изменение положения и формы локальных максимумов в спектре пропускания СМВ ПС, заполненного реакционной смесью белка F1 и опытной сыворотки, содержащей анализируемые антитела, происходит за короткий промежуток времени. Путём измерений в режиме реального времени установлено, что достаточно 1–2 минут, чтоб зафиксировать основную динамику изменения в спектре пропускания СМВ ПС, свидетельствующую об образовании иммунного комплекса и достаточную для проведения качественной реакции с целью выявления присутствия в исследуемом образце искомых антител (рис. 3А). В отличие от опытных образцов, в контрольных пробах не выявлено значимых изменений динамики интенсивности светорассеяния в полостях СМВ ПС (рис. 3Б).

При изучении взаимодействия сывороток привитых людей с белком F1 в полостях СМВ ПС отмечали смещение интенсивности или сдвига кривой светорассеяния в тех же пробах, что и при использовании традиционного метода ИФА. В контрольных сыворотках изменений в оптическом спектре не наблюдали. Высокая чувствительность прямого метода детекции позволила обнаружить образование иммунных комплексов при исследовании сывороток от привитых ВЧЖ людей, в которых при исследовании классическим методом ИФА титр антител был ниже диагностического (1:80).

Следует отметить, что в отношении чумы до настоящего времени не определен уровень специфических антител, необходимый для обеспечения защиты макроорганизма от заболевания. Оценка фактической привитости ВЧЖ только по серологическим тестам не может в полной мере отражать истинное состояние иммунобиологической перестройки организма в ответ на введение ВЧЖ [9]. Так, у части прививаемого ВЧЖ контингента высокий уровень антител может сохраняться больше года с момента вакцинации, в то время как у других людей, в том числе перенесших чуму, сероконверсия не достигает 100% [10].

Изменение специфического гуморального ответа при чуме связано с особенностями функционирования всех систем, участвующих в формировании адаптивного иммунного ответа, поэтому

целесообразно оценивать фактическую привитость по совокупности гуморальных и клеточных реакций организма на введение вакцины. Информационной основой для комплексного анализа динамических изменений иммунного статуса вакцинируемых людей служат аналитические базы, позволяющие аккумулировать индивидуальные данные от каждого обследуемого человека по целому ряду ключевых и дополнительных тестов. Разработанный экспресс-метод прямой детекции антител с помощью СМВ ПС, наряду с классическим методом ИФА и другими иммунологическими методами, может быть использован для оценки эффективности проводимой против чумы вакцинации. Преимущества способа оценки антител с помощью СМВ ПС – его быстрота и возможность использования в полевых условиях без трудоёмкой пробоподготовки, что расширяет возможности оценки гуморального иммунитета обследуемого контингента на территории природных очагов за счёт широкого охвата населения удалённых территорий. Далее, на базе массива сохранённых и упорядоченных данных возможна разработка алгоритма индивидуальной оценки сроков формирования и сохранения поствакцинального иммунитета у привитого контингента, что даёт возможность прогнозировать характер и интенсивность иммунного ответа у привитых людей, а также выделять параметры, определяющие риск формирования неадекватного иммунного ответа на вакцину.

Заключение

В проведённых экспериментах по детекции иммунных комплексов в исследуемом материале с использованием мультифункциональной сенсорной платформы на основе МСВ были выявлены следующие преимущества использования данного способа:

- Быстрота (максимум 2 минуты на один тест, причем прямое измерение длится 55 секунд).
- Отсутствие необходимости применения видоспецифичных вторичных антител, ферментов и субстратов, что приводит к снижению трудоёмкости и многоэтапности исследования.
- Универсальность, т.к. предложенный способ детекции может быть использован для прямой детекции не только антител, но и множества биомолекул и их конъюгатов.
- Отсутствие необходимости в громоздком дорогостоящем оборудовании и специально обученном персонале.

Преимущества экспресс-метода обнаружения антител позволяют проводить скрининг биоматериала в полевых условиях, характеризуя сероконверсию у лиц из групп риска, проживающих на отдалённых и труднодоступных территориях природных очагов опасных и особо опасных инфекционных болезней. Дальнейшее внедрение в практику современных технологий, основанных на использовании антиген-специфических тестов *in vitro* в базовый алгоритм оценки эффективности

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

применения ВЧЖ будет способствовать совершенствованию профилактических мероприятий как составной части эпидемиологического надзора за чумой.

Литература

1. Коновалова О. А., Анчикова Л. И., Нагулин К. Ю. и др. Способ определения аутоантител и способ диагностики аутоиммунного тиреозита. Патент РФ на изобретение № 2315313. 20.01.2008. Бюл. №2. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2315313> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
2. Кудрявцева О. М., Кожевников В. А., Бугоркова С. А. и др. Способ детекции антител в биоматериале с использованием стеклянных микроструктурных волноводов. Патент РФ на изобретение № 2753856. 24.08.2021. Бюл. № 24. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2753856> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
3. Титенко М. М., Вейнблат В. И., Веренков М. С. и др. Препаративный метод выделения и очистки капсульного антигена возбудителя чумы при помощи изоэлектрической преципитации. В сб.: Диагностика и профилактика особо опасных инфекций. Саратов: Коммунист; 1983. С. 34–39.
4. Скибина Ю. С., Гюнтер Ш. Чипированный микроструктурный волновод и способ его изготовления. Патент РФ на изобретение № 2606796. 10.01.2017. Бюл. № 1. Доступно на: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2606796> Ссылка активна на 16 декабря 2022 г.
5. Бугоркова С. А., Ключева С. Н., Кудрявцева О. М. и др. Иммунологический мониторинг вакцинированных против чумы в Прикаспийском песчаном природном очаге для оценки и управления рисками здоровью населения. Анализ риска здоровью. 2020. № 4. С. 121–129.
6. Корытов К. М., Войткова В. В., Дубровина В. И. и др. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге // Acta biomedica scientifica. 2019. Т. 4, №5. С. 31–37.
7. Кудрявцева О. М., Гончарова А. Ю., Бугоркова С. А. и др. Анализ факторов, влияющих на иммунологическую реактивность лиц, вакцинированных живой чумной вакциной. Здоровье населения и среда обитания. 2020. № 6 (327). С. 17–24.
8. Иммунологические методы. Фримель Г., ред. М.: Медицина; 1987
9. Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., et al. Early diagnosis of bubonic plague using F1 antigen capture ELISA assay and rapid immunogold dipstick. Int J Med Microbiol. 2000. Vol. 290, N 3. P. 279–283.
10. Sagiyev Z., Berdibekov A., Bolger T., et al. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14, № 6. e0218366.

References

1. Konovalova OA, Anchikova LI, Nagulin KI, Sposob opredeleniya autoantitel i sposob diagnostiki autoimmunnogo tireoidita. Patent RUS №2315313. 20.01.2008. Byul. №2. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2315313> Accessed: 26 May 2022 (In Russ).
2. Kudryavtseva OM, Kozhevnikov VA, Bugorkova SA, et al. Sposob detekcii antitel v biomaterialie s ispol'zovaniem steklyannykh mikrostrukturnykh volnovodov Patent RUS №2753856. 24.08.2021 Byul. №24. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2753856> Accessed: 26 May 2022. (In Russ).
3. Titenko MM, Veinblat VI, Verenkov MS, et al. Preparativnyi metod vydeleniya i ochistki kapsul'nogo antigena возбуdivatelya chumy pri pomoshchi izoelektricheskoi pretsipitatsii. In: Diagnostika i profilaktika osobo opasnykh infektsii. Saratov: Kommunist; 1983. P. 34–39 (In Russ).
4. Skibina JS, Gyunter SH. Chipirovannyi mikrostrukturnyi volnovod i sposob ego izgotovleniya. Patent RUS №2606796. 10.01.2017. Byul. №1. Available at: <https://www.fips.ru/cdfi/fips.dll/ru?ty=29&docid=2606796> Accessed: 26 May 2022 (In Russ).
5. Bugorkova SA, Klyueva SN, Kudryavtseva OM, et al. Immunologic monitoring over people vaccinated against plague in caspian sand natural focus in order to assess and manage health risks. Health Risk Analysis. 2020;4:121–129 (In Russ). doi: 10.21668/health.risk/2020.4.14.eng
6. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, et al. Efficiency of Human Plague Vaccination in Tuvian Natural Plague Focus. Acta biomedica scientifica. 2019;4(5): 31–37 (In Russ). doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5
7. Kudryavtseva OM, Goncharova AY, Bugorkova SA, et al. Analiz faktorov, vliyayushchikh na immunologicheskuyu reaktivnost' lits, vaktsinirovannykh zhivoi chumnoi vaktsinoy. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2020;6(327). 17–24 (In Russ). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2020-327-6-17-24>
8. Frimel' G, editor. Immunologicheskie metody. Moscow: Meditsina; 1987 (In Russ).
9. Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., et al. Early diagnosis of bubonic plague using F1 antigen capture ELISA assay and rapid immunogold dipstick // Int J Med Microbiol. 2000;290(3):279–283. doi: 10.1016/S1438-4221(00)80126-5.
10. Sagiyev Z, Berdibekov A, Bolger T, et al. Human response to live plague vaccine EV, Almaty region, Kazakhstan, 2014–2015. PLoS ONE. 2019;14(6):e0218366.doi: 10.1371/journal.pone.0218366. eCollection 2019.

Об авторах

- **Ольга Михайловна Кудрявцева** – к. б. н., старший научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0002-9894-3394.
- **Юлия Сергеевна Скибина** – к. ф.-м. н., директор, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2505-6396.
- **Виталий Александрович Кожевников** – младший научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7267-7027.
- **Светлана Александровна Бугоркова** – заведующая отделом, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7548-4845.
- **Михаил Валерьевич Чайников** – главный инженер, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-7860-1039.
- **Алексей Юрьевич Грязнов** – старший научный сотрудник, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-8997-5271.
- **Дмитрий Евгеньевич Глухов** – директор по инновациям, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0001-9037-4564.
- **Светлана Сергеевна Коннова** – старший научный сотрудник, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-1282-7980.
- **Андрей Александрович Шувалов** – заместитель начальника научно-исследовательского отдела, ООО НПП «Наноструктурная Технология Стекла», г. Саратов. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2059-999X.
- **Татьяна Николаевна Щуковская** – главный научный сотрудник, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», г. Саратов. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-8995-0895.

Поступила: 16.06.2022. Принята к печати: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.

About the Authors

- **Olga M. Kudryavtseva** – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, 3030774@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9894-3394.
- **Julia S. Skibina** – Cand. Sci. (Phys.-Math.), director, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2505-6396.
- **Vitalii A. Kozhevnikov** – Junior researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7267-7027.
- **Svetlana A. Bugorkova** – Chief Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-7548-4845.
- **Mikhail V. Chainikov** – Chief Engineer, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-7860-1039.
- **Aleksei Yu. Gryaznov** – Senior Researcher, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0002-8997-5271.
- **Dmitrii E. Glukhov** – director of innovation, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0001-9037-4564.
- **Svetlana S. Konnova** – Senior Researcher, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-1282-7980.
- **Andrei A. Shuvalov** – Deputy Head of Research Department, SPE LLC «Nanostructured Glass Technology», Russia. +7 (8452) 65-19-97, info@nano-glass.ru. ORCID: 0000-0003-2059-999X.
- **Tatyana N. Shchukovskaya** – Chief Researcher, Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe», Russia. +7 (8452) 26-21-31, rusrapi@microbe.ru. ORCID: 0000-0001-8995-0895.

Received: 16.06.2022. Accepted: 14.09.2022.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.