

Иммунологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за бруцеллезом в Сибири

Н. О. Киселева*, В. И. Дубровина, К. М. Корытов, А. Б. Пятидесятникова,
Д. Д. Брюхова, С. В. Балахонов

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, г. Иркутск

Резюме

Актуальность. Бруцеллез является особо опасным зоонозным инфекционным заболеванием животных и человека, характеризующимся множественным поражением органов и систем с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму. В Российской Федерации в последние годы сохраняется неустойчивая эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу. **Цель.** Проведение скринингового исследования, направленного на оценку клеточного и гуморального звена иммунитета у людей, проживающих на неблагополучных по бруцеллезу территориях, с использованием антигенспецифических тестов *in vitro*. **Материалы и методы.** В исследовании участвовали добровольцы, проживающие на неблагополучных по бруцеллезу территориях Республик Тыва (с. Хандагайты Овюрского кожууна, $n = 317$) и Алтай (п. Кош-Агач Кош-Агачского района, $n = 150$), а также сотрудники Иркутского научно-исследовательского противочумного института ($n = 30$). Исследование включало определение наличия специфических антител класса G к бруцеллезному антигену и иммуноглобулинов класса A, M, G и E, концентрации цитокинов (IFN- γ , IL-2, и др.) в сыворотке крови. С помощью твердофазного иммуноферментного анализа устанавливали спонтанную и антигениндуцированную продукцию цитокинов клетками крови, методом проточной цитофлуориметрии – иммунофенотипирование лимфоцитов крови. **Результаты.** Среди всех обследованных волонтеров с неблагополучных территорий специфические антитела к возбудителю бруцеллеза выявлены у 113 человек (24,2%). Установлено, что индекс стимуляции IL-2 в группе серонегативных обследованных в 2,3 раза выше, по сравнению с серопозитивной группой. Положительные результаты оценки уровня антигениндуцированной продукции (УАП) IFN- γ отмечены у 48 (16,8%) добровольцев, что свидетельствует о наличии у них Т-лимфоцитов с антигенспецифическими рецепторами к возбудителю бруцеллеза. Установлено, что УАП IFN- γ выше в 8,3 раза у волонтеров со специфическими антителами к возбудителю бруцеллеза. У людей с диагнозом «Бруцеллез» и вакцинированных добровольцев отмечено увеличение коэффициента стимуляции маркеров активации Т-лимфоцитов (CD25 и HLA-DR) $>51\%$. **Заключение.** Таким образом, продемонстрирована эффективность применения антигенспецифических тестов *in vitro* для оценки формирования поствакцинального иммунитета и диагностики бруцеллезной инфекции. Внедрение в практику ежегодного иммунологического мониторинга специфического иммунитета против бруцеллеза у людей, проживающих на неблагополучных по этой инфекции территориях Сибири, позволяет повысить эффективность комплекса мероприятий по обеспечению эпидемиологического надзора за бруцеллезом.

Ключевые слова: бруцеллез, мониторинг, иммунитет, вакцинация, антитела, антиген, цитокины, маркеры активации
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Киселева Н. О., Дубровина В. И., Корытов К. М. и др. Иммунологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за бруцеллезом в Сибири. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2025;24(2):43-50. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2025-24-2-43-50>

Immunological Monitoring in the System of Epidemiological Surveillance of Brucellosis in Siberia

NO Kiseleva**, VI Dubrovina, KM Korytov, AB Pyatidesyatnikova, DD Bryukhova, SV Balakhonov
Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia

Abstract

Relevance. Brucellosis is a particularly dangerous zoonotic infectious disease, characterized by multiple lesions of organs with a high potential for transition to a chronic forms. In recent years a situation on brucellosis remains unstable epidemiologic in the Russian Federation. **Aim of study.** The conduction of screening research in people living in brucellosis-unfavorable territories the cellular and humoral immunity indicators using antigen-specific *in vitro* tests. **Materials and Methods.** The immunologic monitoring

* Для переписки: Киселева Наталья Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78. +7 (983) 412-27-00, nata13026@yandex.ru. ©Киселева Н. О. и др.

** For correspondence: Kiseleva Natalya O., junior researcher laboratory of pathophysiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, 78, Trillissera str., Irkutsk, 664047, Russia. +7 (983) 412-27-00, nata13026@yandex.ru. ©Kiseleva NO, et al.

of volunteers from brucellosis-unfavorable territories of the Republics of Tyva (Khandagaiti village, Ovurskiy district, $n=317$) and Altai (Kosh-Agach village, Kosh-Agachskiy district, $n=150$), and employees from the institute ($n=30$). The research included determination of the presence of specific antibodies of class G to the brucellosis pathogen, concentrations of cytokines (IFN- γ , IL-2, etc.) and major classes of immunoglobulins in blood serum, spontaneous and antigen-induced production of cytokines by blood cells using ELISA, and immunophenotyping of blood lymphocytes by flow cytometry. **Results and discussion.** Among all examined volunteers from unfavorable territories, specific antibodies to the brucellosis pathogen were detected in 113 people (24.2%). The IL-2 stimulation index in the seronegative volunteer group was found to be 2.3 times higher compared to the seropositive group. Positive results of the level of antigen-induced production (LAP) of IFN- γ were observed in 48 (16.8%) volunteers, which indicates the presence of T-lymphocytes with antigen-specific receptors to the brucellosis pathogen. IFN- γ 's LAP was found to be 8.3 times higher in volunteers with specific antibodies to the brucellosis pathogen. Humans diagnosed with brucellosis and vaccinated volunteers showed an increase in the stimulation ratio of T-lymphocyte activation markers (CD25 and HLA-DR) $>51\%$. **Conclusion.** Thus, the effectiveness of antigen-specific *in vitro* tests for assessing the formation of postvaccinal immunity and diagnosis of brucellosis infection was demonstrated. The introduction of annual immunologic monitoring of specific immunity against brucellosis in humans living in brucellosis-unfavorable territories of Siberia makes it possible to increase the effectiveness of the complex of measures to ensure epidemiological surveillance of brucellosis.

Keywords: brucellosis, monitoring, immunity, vaccination, antibodies, antigen, cytokines, activation markers

No conflict of interest to declare.

For citation: Kiseleva NO, Dubrovina VI, Korytov KM, et al. Immunological monitoring in the system of epidemiological surveillance of brucellosis in Siberia. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2025;24(2):43-50 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2025-24-2-43-50>

Введение

Бруцеллез – опасная зоонозная инфекция животных и человека, характеризующаяся множественным поражением органов и систем с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму заболевания [1]. В последние годы эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации характеризуется как неустойчивая на фоне стойкого неблагополучия ввиду выявления новых случаев заболевания бруцеллезной инфекцией крупного (КРС) и мелкого (МРС) рогатого скота. Наиболее неблагоприятными эпизоотическими очагами остаются административные субъекты с развитым животноводством (Северо-Кавказский, Южный и Сибирский федеральные округа), на долю которых в последние 10 лет приходилось от 70% до 90% заболеваний бруцеллезом. В 2013–2022 гг. в среднем ежегодно регистрировалось 327 случаев бруцеллеза среди людей, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 0,24 [2].

Основой специфической профилактики бруцеллеза является вакцинация, которая входит в календарь прививок по эпидемическим показаниям и регламентируется санитарно-эпидемиологическими правилами и нормами СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». На территории Российской Федерации для иммунизации людей против бруцеллеза применяется живая вакцина, приготовленная из вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 BA, обеспечивающая развитие иммунитета продолжительностью до 10–12 месяцев, с максимальной напряженностью в течение 5–6 месяцев [1,3].

Учитывая, что ведущая роль в формировании иммунологической защиты организма против

бруцелл отводится клеточным факторам иммунного ответа [4,5], а серологические исследования только косвенно могут указывать на напряженность противобруцеллезного иммунитета, совершенствование комплекса лабораторной диагностики и разработка информативных подходов для оценки эффективности специфической профилактики требуют внедрения дополнительных методов, основанных на исследовании клеточных факторов иммунитета. Кроме того, изучение клеточных реакций в ответ на специфическую антигенную стимуляцию является наиболее информативным (маркерным) и объективным подходом при оценке иммунологической перестройки организма при болезни или вакцинации против бруцеллеза [6,7].

Цель исследования – проведение скринингового исследования, направленного на оценку клеточного и гуморального звена иммунитета у людей, проживающих на неблагополучных по бруцеллезу территориях Сибири, с использованием антиген-специфических тестов *in vitro*.

Материалы и методы

В скрининговом исследовании приняли участие 467 добровольцев (20% мужчин и 80% женщин), проживающих на неблагополучных по бруцеллезу территориях Республики Тыва (с. Хандагайты, Овурский кожуун) ($n = 317$) и Республики Алтай (п. Кош-Агач, Кош-Агачский район) ($n = 150$). Волонтеры были разделены на четыре возрастные группы: 18–25 лет (6,6%, $n = 31$), 26–60 лет (79,4%, $n = 371$) и 61 год и старше (13,9%, $n = 65$). В ходе иммунологического мониторинга также были обследованы 30 сотрудников ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, которые распределены на 3 группы: 1 – с диагнозом «Бруцеллез» в анамнезе,

у одного из которых наблюдалось обострение ($n = 3$); 2 – вакцинированные против бруцеллеза ($n = 8$); 3 – контрольная группа (условно здоровые, в анамнезе которых отсутствует диагноз бруцеллез и вакцинация против данной инфекции, $n = 19$).

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Волонтеры дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (Протокол № 7 от 15.11.2021 г.).

Отбор клинического материала (периферическая кровь) проводили с помощью вакуумных систем для взятия крови (Improve, Китай и Vacutest Kima, Италия). Из крови выделяли сыворотку по стандартной методике. Уровень основных классов иммуноглобулинов (классы А, М, G и E), про- и противовоспалительных цитокинов, а также наличие специфических иммуноглобулинов класса G (IgG) к бруцеллезному антигену определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (р. п. Кольцово, Новосибирская область, Россия) согласно инструкциям производителя. Концентрацию цитокинов (α TNF, IL-2, IFN- γ , IL-4 и IL-10) выражали в пг/мл, а иммуноглобулинов классов А, М, G – в мг/мл и МЕ/мл (класс E). Учет оптической плотности проводили на автоматическом 8-канальном микропланшетном фотометре для иммуноферментного анализа StatFax 4200 (Awareness Technology, США).

Для определения уровня цитокинов в антиген-специфическом клеточном тесте *in vitro* (БРИФ-тест) использовали гепаринизированную кровь. В пробирки типа эппендорф вносили по 500 мкл крови и 50 мкл рабочего раствора экспериментального бруцеллезного антигенного комплекса (БПБА, серия 1-19, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ставрополь) в концентрации 0,25 мг антигена на пробу (опытная проба), а в фоновые – 50 мкл забуференного физиологического раствора (ЗФР). Инкубировали 24 часа при температуре 37 °C в условиях повышенного содержания CO₂ (5%). Рассчитывали уровень антигениндуцированной продукции (УАП) IFN- γ Т-лимфоцитами крови по формуле: где О – концентрация цитокина в опытной пробе в пг/мл, Ф – концентрация цитокина в фоновой пробе в пг/мл, и выражали в МЕ/мл. Результат считали положительным при УАП > 1,00. Для цитокинов IL-2, IL-4 и IL-10 считали индекс стимуляции (ИС) по формуле: ИС = О/Ф, а результаты выражали в условных единицах (у.е.).

Имунофенотипирование лимфоцитов крови проводили с использованием «коктейля» сертифицированных моноклональных антител (МКАт, Becton Dickinson, США) CD45-Alexa-700,

CD3-PE-Cy7, CD4-PerCP, CD8-APC-Cy7, CD19-FITC, CD16-PE. Для цитофлуориметрического анализа 50 мкл цельной крови с ЭДТА и 50 мкл «коктейля» МКАт, перемешивали на вортексе и инкубировали при 4 °C в темноте в течение 30 мин. Лизис эритроцитов проводили с помощью раствора BD FACS™ Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе анализировалось не менее 10 000 событий. Для изучения клеточного звена в протоколе цитометрического анализа выделяли зону интересов по панлейкоцитарному кластеру дифференциации (CD45) и определяли относительное содержание основных популяций лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺), NK-клетки (CD3⁺CD16⁺) и В-лимфоциты (CD3⁺CD19⁺).

Интенсивность экспрессии маркеров активации (CD25, HLA-DR) на Т-лимфоцитах (CD45⁺CD3⁺) *in vitro* оценивали в соответствии с МР 3.1.0207-20 «Цитометрический анализ антигенреактивности лейкоцитов *in vitro* для диагностики и оценки эффективности иммунопрофилактики бруцеллеза у людей». Для интерпретации результата рассчитывали коэффициент стимуляции (КС): $КС = (C - K) / C \times 100$, где С – относительный уровень содержания в крови активированных Т-лимфоцитов в опытной пробе после инкубации с бруцеллезным антигеном, К – относительный уровень содержания в крови активированных Т-лимфоцитов в контрольной пробе после инкубации с изотоническим раствором натрия хлорида. Положительной считается реакция при КС > 51%.

При статистическом анализе полученных данных использовали пакет прикладных программ «STATISTICA» версия 12. так как сравниваемые выборки не соответствовали нормальному распределению применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25–Q75). При этом различия считали статистически значимыми при уровне достоверности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Установлено, что среди всех обследованных добровольцев ($n = 467$) специфические IgG к возбудителю бруцеллеза обнаружены у 113 человек (24,2%). Среди них 100 человек (31,5%, $n = 317$) из с. Хандагайты (Республика Тыва) и 13 (8,7%, $n = 150$) из п. Кош-Агач (Республика Алтай).

В дальнейшем скрининговую группу ($n = 467$) условно разделили на две группы в зависимости от наличия специфических IgG к бруцеллезному микробу на серонегативных ($n=354$) и серопозитивных ($n = 113$).

Доля респондентов, указавших в анамнезе факт вакцинации, составила 9,6% ($n = 46$). Среди

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

вакцинированных специфический IgG к возбудителю бруцеллеза выявлен у 17 человек (37%). Так, в с. Хандагайты 43 обследованных указали в анкете наличие вакцинации против бруцеллеза, доля серопозитивных из них составила 39,5%. В п. Кош-Агач о наличии вакцинации заявили 2% ($n = 3$), тем не менее, специфические IgG к возбудителю бруцеллеза не обнаружены.

Стоит отметить, что у 7 человек, неоднократно принимавших участие в иммунологическом мониторинге и не указавших в анкете о вакцинации, специфические антитела выявлены повторно. Вероятно, наличие специфических противобруцеллезных антител помимо вакцинации может быть обусловлено контактом с возбудителем в результате ведения домашнего хозяйства (несоблюдение ветеринарных требований при содержании сельскохозяйственных животных, употребления недостаточно термически обработанного домашнего молока), а также в случае перенесенного или наличия хронического бруцеллеза [2,9].

Уровень общего IgE у всех обследованных добровольцев ($n = 467$) соответствовал референсным значениям. Статистических значимых различий между группами серонегативных и серопозитивных волонтеров по уровню иммуноглобулинов класса A, M, G не выявлено (табл. 1).

В ходе изучения субпопуляционного состава клеток крови добровольцев с обследованных территорий (с. Хандагайты, п. Кош-Агач) статистически

значимых отличий между сравниваемыми группами серопозитивных и серонегативных волонтеров выявлено не было (табл. 2), при этом все показатели не превышали значений физиологической нормы.

Установлено, что уровень про- (IL-2, TNF- α и IFN- γ) и противовоспалительных (IL-4 и IL-10) цитокинов у добровольцев не превышал референсных значений и статистически значимо не отличался между сравниваемыми группами (табл. 3).

Установлено, что концентрация IFN- γ была достоверно выше в опытных пробах как в группе серонегативных, так и в группе серопозитивных добровольцев, по сравнению со значениями в фоновых пробах (табл. 4).

Выявлено статистически значимое повышение показателя УАП IFN- γ ($> 1,00$ МЕ/мл) у 19 серопозитивных (16,8%) и 29 серонегативных волонтеров (8,2%), что свидетельствует о наличии у них сенсibilизированных Т-лимфоцитов с антигенспецифическими рецепторами к возбудителю бруцеллеза, которые сформировались при взаимодействии иммунной системы хозяина с бруцеллами в результате инфекционного процесса или формирования поствакцинального иммунитета. Также установлено, что показатель УАП IFN- γ в 8,3 раза выше ($p < 0,01$), в группе серопозитивных волонтеров по сравнению с группой серонегативных (рис. 1).

При расчете ИС IL-2 установлено, что его медиана у серонегативных добровольцев в 2,3 раза

Таблица 1. Основные классы иммуноглобулинов, Me (Q25–Q75)
Table 1. The major classes of immunoglobulins, Me (Q25–Q75)

Показатель Index	Серонегативные Seronegative	Серопозитивные Seropositive	Референсные значения Reference values
IgE (МЕ/мл) (IU/mL)	6,8 (3–24)	11,8 (3,4–33,5)	0–100
IgA (мг/мл) (mg/mL)	2,6 (1,7–3,8)	3,1 (2–5,6)	0,7–4,0
IgM (мг/мл) (mg/mL)	2 (1,3–3,1)	2,6 (1,6–3,2)	0,4–2,3
IgG (мг/мл) (mg/mL)	10,4 (4,8–17)	10,4 (4–17,3)	7,0–16,0

Таблица 2. Показатели субпопуляционного состава клеток крови волонтеров, Me (Q25–Q75%)
Table 2. Indicators of subpopulation composition of blood cells of volunteers, Me (Q25% – Q75%)

Показатель Index	Серонегативные Seronegative	Серопозитивные Seropositive	Референсные значения Reference values
CD3+, %	76,05 (70,3–79,5)	73,8 (70,3–81,6)	58–76
CD3+ CD4+, %	40,3 (35,6–47)	42 (37,9–45,5)	35–55
CD3+ CD8+, %	26,7 (22,1–32,7)	25,2 (21,1–33,4)	17–37
CD3-CD16+, %	12,45 (9–16,5)	11,9 (8,9–14,8)	6–26
CD3-CD19+, %	9,65 (7,7–12)	10,2 (8,3–13)	8–19
Иммунорегуляторный индекс, у.е. Immunoregulatory index immunoregulatory index, units	1,4 (0,8–1,9)	1,6 (1,1–1,9)	1,5–2,6

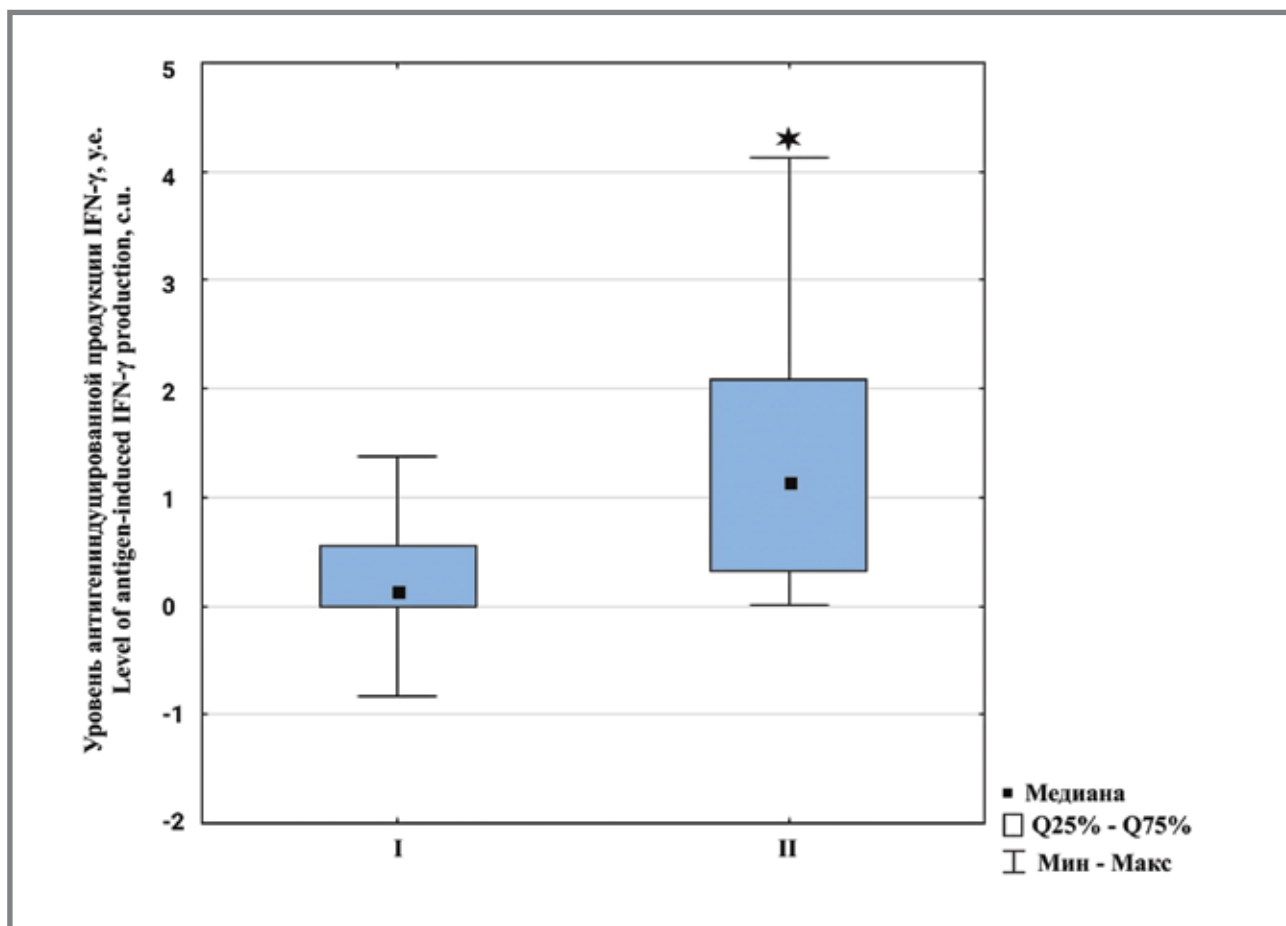
Таблица 3. Концентрация цитокинов в сыворотке крови добровольцев, Ме (Q25–Q75%)

Table 3. Cytokine concentrations in the serum of volunteers, Me (Q25%-Q75%)

Показатель, пг/мл Index, pg/ml	Серонегативная Seronegative	Серопозитивная Seropositive	Референсные значения Reference values
IL-2	0 (0–0)	0 (0–0)	0–10
IL-4	0,3 (0–0,7)	0 (0–0,8)	0–4
IL-10	7,2 (6,2–9,4)	7,2 (6,0–8,4)	0–31
IFN- γ	0,1 (0–0,3)	0,1 (0–0,3)	0–15
TNF- α	2,3 (1,5–3,8)	2,5 (1,8–3,4)	0–6

Таблица 4. Продукция IFN- γ у добровольцев, Ме (Q25%-Q75%)Table 4. IFN- γ production in volunteers, Me (Q25%-Q75%)

Группа Group	Показатель, пг/мл Index, pg/ml	
	Фоновая продукция Background production	Антигениндуцированная продукция Antigen-induced production
Серонегативная Seronegative (n = 354)	6,7 (2,7–24,1)	20,45 (9,2–43,7)*
Серопозитивная Seropositive (n = 113)	7,3 (3,4–30,4)	43,1 (19,0–102,0)*

Примечание: * $p < 0,01$ – статистически значимые отличия, по сравнению с показателем в фоновых пробах.Note: * $p < 0.01$ - statistically significant differences compared to the index in background samples.Рисунок 1. Отличия УАП IFN- γ между группами серопозитивных и серонегативных добровольцев, Ме (Q25–Q75%)Figure 1. Differences of IFN- γ LAP between groups of seropositive and seronegative volunteers, Me (Q25–Q75%)Примечание: I – группа серонегативных волонтеров; II – группа серопозитивных волонтеров; * – $p < 0,01$.Note: I – subgroup of seronegative volunteers; II – subgroup of seropositive volunteers; * – $p < 0.01$.

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

выше по сравнению с серопозитивными (табл. 5). Статистически значимых отличий между спонтанной и индуцированной продукцией IL-10 и IL-4 не выявлено.

При обследовании сотрудников института (n = 30) специфические антитела к бруцеллам обнаружены в группе 1 (n = 3/3) и 75% в группе 2 (n = 6/8). В контрольной группе специфические

антитела не обнаружены. Показано увеличение интенсивности экспрессии (КС > 51%) маркеров CD25 и HLA-DR при стимуляции бруцеллезным антигеном у добровольцев с диагнозом «Бруцеллез» (рис. 2А). У добровольца с обострением бруцеллезной инфекции (рис. 2Б) в антиген-специфическом тесте активация Т-лимфоцитов не выявлена (КС для CD25 составил -130%, для HLA-DR – -20%).

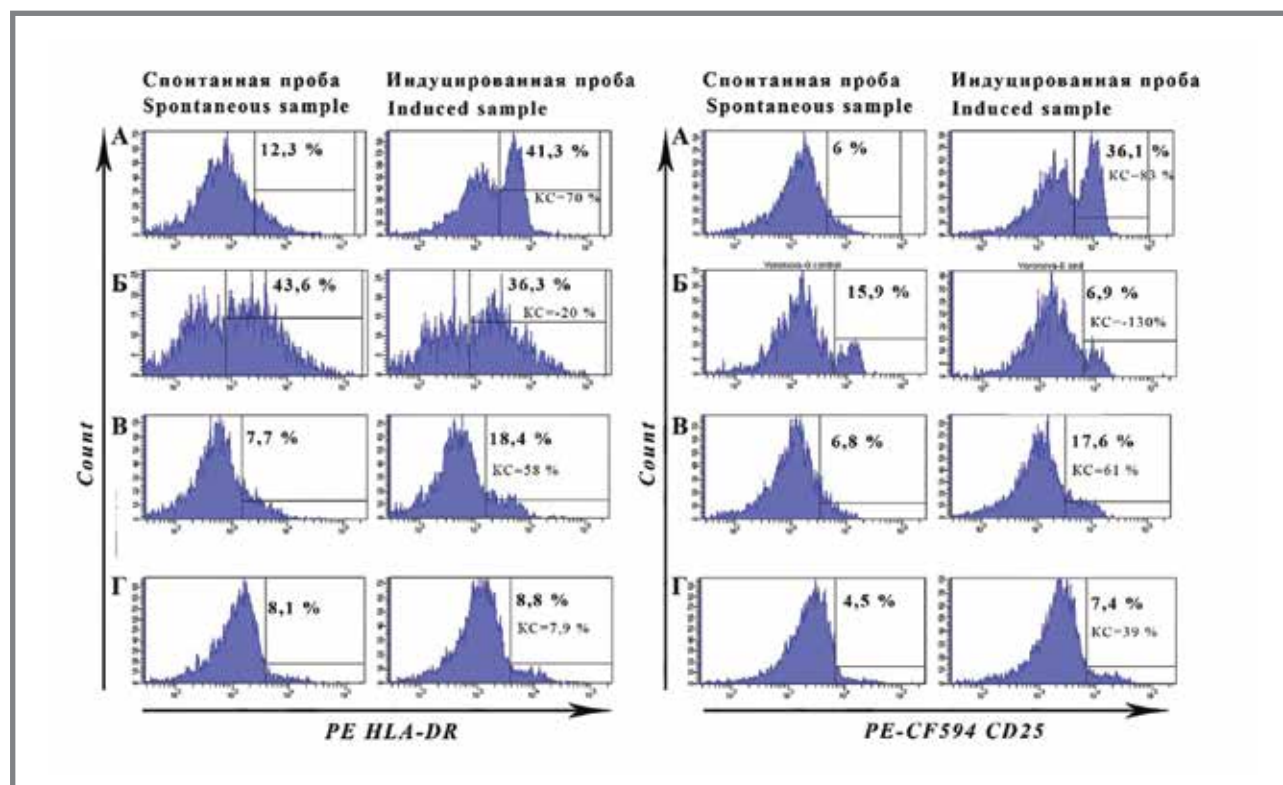
Таблица 5. Спонтанная и антигениндуцированная продукция IL-2, IL-4 и IL-10 у добровольцев, Ме (Q25–Q75%)
Table 5. Spontaneous and antigen-induced production of IL-2, IL-4 and IL-10 in volunteers, Me (Q25–Q75%)

Показатель, пг/мл Index, pg/ml	Группа Group					
	Серонегативная Seronegative			Серопозитивная Seropositive		
	Фоновая Продукция	Индукцированная продукция	ИС, у.е.	Фоновая Продукция	Индукцированная продукция	ИС, у.е.
IL-2	0,4 (0–1,1)	2,2 (1,1–3,3)*	1,4 (0,6–6,8)**	1,3 (0,4–2,0)**	1,7 (0,1–3,5)**	0,6 (0–6,1)
IL-4	0,4 (0–1,9)	0,95 (0–2,1)*	0,58 (0–1,8)	0,1 (0–1,1)	0,9 (0,1–2,0)*	1,3 (0,1–3,9)
IL-10	66,2 (28,2–108,7)	259,1 (109,1–602,9)*	3,4 (1,3–6,7)	86,0 (12,2–137,1)	209,1 (71,0–322,0)*	1,7 (1,2–5,8)

Примечание: * p < 0,05 – статистически значимые отличия, по сравнению с показателем в фоновых пробах; ** p < 0,05 – статистически значимые отличия между группами серопозитивных и серонегативных волонеров.

Note: * p < 0.05 - statistically significant differences compared to the index in background samples; ** p < 0.05 - statistically significant differences between the groups of seropositive and seronegative volunteers.

Рисунок 2. Результаты антиген-специфической стимуляции маркеров активации CD25 и HLA-DR
Figure 2: Results of antigen-specific stimulation of activation markers CD25 and HLA-DR



Примечание: А – люди с диагнозом бруцеллез в анамнезе (группа 1); Б – волонтер с обострением бруцеллеза; В – добровольцы, вакцинированные против бруцеллеза (группа 2); Г – условно здоровые волонтеры (группа 3).

Note: A - people with a history of brucellosis diagnosis (group 1); B - volunteer with brucellosis exacerbation; C - volunteers vaccinated against brucellosis (group 2); D - conditionally healthy volunteers (group 3).

У 87% вакцинированных сотрудников выявлено увеличение активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD25 (КС в среднем составил 58%) и у 75% – HLA-DR (n = 6/8, КС в среднем составил 64%) в независимости от наличия специфических антител (рис. 2В). В контрольной группе стимуляции Т-лимфоцитов в антиген-специфическом тесте не отмечено (КС экспрессии CD25 не превышал 39% и HLA-DR – 8%).

Поскольку экспрессия маркеров активации CD25 и HLA-DR отражает функциональное состояние Т-лимфоцитов и увеличение их содержания наблюдается при воспалительных процессах различной этиологии, обострениях хронических инфекций. CD25 – маркер ранней активации Т-клеток, который отражает способность к пролиферации и дифференцировке, а HLA-DR является маркером поздней активации и рассматривается как показатель силы иммунного ответа и гиперреактивности иммунитета [8]. Повышение экспрессии CD25 и HLA-DR на Т-лимфоцитах крови более 51% при воздействии бруцеллезного антигена у людей с диагнозом «Бруцеллез» и вакцинированных против него подтверждает факт сенсibilизации организма людей и свидетельствует о наличии достаточно уровня специфического иммунитета.

Высокое содержание CD3⁺HLA-DR⁺-клеток в спонтанной пробе, превышающее референсные значения (1,3–10%) в 4,4 раза, свидетельствует об активно протекающем воспалительном процессе и характеризует обострение бруцеллеза у одного обследованного. Снижение количества CD3⁺-клеток, экспрессирующих CD25 и HLA-DR, в индуцированной бруцеллезным антигеном пробе и соответственно отрицательный показатель КС говорит об исчерпании потенциальных

возможностей Т-клеток. Вероятно это связано с тем, что при длительной хронической бруцеллезной инфекции наблюдается снижение эффекторных функций CD8⁺-клеток, т.е. развивается функциональная гипочувствительность [9–11]. Таким образом, повторная стимуляция уже активированных ростом бактериальной нагрузки при обострении бруцеллеза клеток приводит к снижению или полной утрате у них эффекторных функций, что видно в антигенспецифическом тесте.

Заключение

Таким образом, в рамках иммунологического скрининга на неблагополучных по бруцеллезу территориях в с. Хандагайты (Республика Тыва) и п. Кош-Агач (Республика Алтай) продемонстрирована эффективность применения антигенспецифических тестов *in vitro* с количественным определением комплекса про- и противовоспалительных цитокинов, показателей УАП IFN-γ и КС маркеров активации CD25 и HLA-DR для диагностики бруцеллезной инфекции и оценки формирования поствакцинального иммунитета.

Ежегодный скрининг показателей специфического иммунитета у вакцинированных против бруцеллеза людей, проживающих на неблагополучных по этой инфекции территориях Сибири, является важной составляющей в комплексе мероприятий по обеспечению эпидемиологического надзора за бруцеллезом. Проведение иммунологического мониторинга контингента из различных групп риска заболевания бруцеллезной инфекцией с применением антигенспецифических тестов *in vitro* позволит применить персонифицированный подход к применению средств специфической профилактики этой инфекции.

Литература

1. Бруцеллез. Современное состояние проблемы. Онищенко Г. Г., Куличенко А. Н., Малецкая О. В., ред. Ставрополь: ООО «Губерния». 2019.
2. Пономаренко Д. Г., Хачатурова А. А., Ковалев Д. А. и др. Анализ заболеваемости бруцеллезом и молекулярно-генетическая характеристика популяции бруцелл на территории Российской Федерации. Проблемы особо опасных инфекций. 2023. Т. 2. С. 61–64. doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74
3. Балахонов С. В., Дубровина В. И., Токарева Л. Е. и др. Бруцеллез: вопросы патогенеза и иммуногенеза. Иркутск: ООО «Принт-2»; 2017.
4. Борисевич И. В., Дармов И. В. Руководство по вакцинопрофилактике особо опасных инфекций. Киров: ООО «Кировская областная типография»; 2011.
5. Пономаренко Д. Г., Саркисян Н. С., Куличенко А. Н. Патогенез бруцеллеза: анализ иммунопатологической концепции (материал для подготовки лекции). Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020. Т. 9, №3. С. 96–105. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-96-105
6. Коршенко В. А., Щипелева И. А., Кретенчук О. Ф. и др. Прошлое, настоящее, перспективы и проблемы совершенствования специфической профилактики бруцеллеза. Медицинский вестник Юга России. 2021. Т. 12, №3. С. X–X. doi: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-12-21
7. Костюченко М. В., Ракитина Е. Л., Пономаренко Д. Г. и др. Изучение формирования клеточного поствакцинального иммунитета против бруцеллеза в лимфоцитарных тестах *in vitro* с использованием экспериментального антигенного комплекса. Медицинская иммунология. 2019. Т. 21, №3. С. 547–554. doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-547-554
8. Никулин Б. А. Оценка и коррекция иммунного статуса. Москва: «ГЭОТАР-Медиа»; 2008.
9. Durward-Dioia M., Harms J., Khan M., et al. CD8⁺ T cell exhaustion, suppressed gamma interferon production, and delayed memory response induced by chronic *Brucella melitensis* infection. Infect Immun. 2015. Vol. 83, N12. P. 4759–4771. doi: 10.1128/IAI.01184-15.
10. Pellegrini J.M., Gorvel J-P, Memet S. Immunosuppressive mechanisms in brucellosis in light of chronic bacterial diseases. Microorganisms. 2022. Vol. 10, N7. P. 1260. https://doi.org/10.3390/microorganisms10071260
11. Schietinger A., Greenberg P.D. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. Trends Immunol. 2014. Vol. 35, N2. P. 51–60. doi: 10.1016/j.it.2013.10.001

References

1. Brucellosis. The Current State of the Issue. Ed.: Onishchenko GG, Kulichenko AN, Maletskaya OV. Stavropol: Gubernia; 2019. (In Russ).
2. Ponomarenko DG, Khachaturova AA, Kovalev DA, et al. Analysis of brucellosis incidence and molecular-genetic characteristics of *Brucella* population in the territory of the Russian Federation. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2023;2:61–74. (In Russ). doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74
3. Balakhonov SV, Dubrovina VI, Tokareva LE, et al. Brucellosis: issues of pathogenesis and immunogenesis. Irkutsk: Print-2; 2017. (In Russ).
4. Borisevich IV, Darmov IV. Manual on vaccine prevention of especially dangerous infections. Kirov: Kirov Regional Printing House; 2011 (In Russ).
5. Ponomarenko DG, Sarkisyan NS, Kulichenko AN. Pathogenesis of brucellosis: analysis of the immunopathological concept. Infectious Diseases: News, Opinions, Training. 2020. Vol. 9, N3. P. 96–105. doi: 10.33029/2305-3496-2020-9-3-96-105 (in Russ)

6. Korshenko VA, Shchipeleva IA, Kretenchuk OF, et al. The past, present, prospects and problems of improving the specific prevention of brucellosis. *Medical Herald of the South of Russia*. 2021;12(3):X–X. doi: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-12-21
7. Kostyuchenko MV, Rakitina EL, Ponomarenko DG, et al. Studying development of post-vaccinal cellular immunity against brucellosis by means of lymphocyte in vitro tests using an experimental antigenic complex. *Medical Immunology*. 2019;21(3):547–554. (In Russ). doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-547-554.
8. Nikulin BA. Evaluation and correction of immune status. *Moscow: GEOTAR-Media*; 2008. (In Russ).
9. Durward-Djioia M, Harms J, Khan M, et al. CD8⁺ T cell exhaustion, suppressed gamma interferon production, and delayed memory response induced by chronic *Brucella melitensis* infection. *Infect Immun*. 2015;83(12):4759–4771. doi: 10.1128/IAI.01184-15.
10. Pellegrini JM, Gorvel J-P, Memet S. Immunosuppressive mechanisms in brucellosis in light of chronic bacterial diseases. *Microorganisms* 2022;10(7):1260. doi: 10.3390/microorganisms10071260
11. Schietinger A, Greenberg PD. Tolerance and Exhaustion: defining mechanisms of T cell Dysfunction. *Trends Immunol*. 2014;35(2):51–60. doi: 10.1016/j.it.2013.10.001

Об авторах

- **Наталья Олеговна Киселева** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. nata13026@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6678-2998.
- **Валентина Ивановна Дубровина** – д. б. н., заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. dubrovina-valya@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8561-6207.
- **Константин Михайлович Коротков** – старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. konstmikhkor@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1137-6049.
- **Дарья Дмитриевна Брюхова** – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. darabrukhov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5589-9522.
- **Анна Борисовна Пятидесятникова** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. 50anechka@mail.ru. ORCID: 0000-0002-6381-4517.
- **Сергей Владимирович Балахонов** – д. м. н. профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. adm@chumin.irkutsk.ru. ORCID: 0000-0003-4201-5828.

Поступила: 22.01.2025. Принята к печати: 28.01.2025.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Natalya O. Kiseleva** – Junior Research, Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. nata13026@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-6678-2998.
- **Valentina I. Dubrovina** – Dr. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. dubrovina-valya@mail.ru. ORCID: 0000-0001-8561-6207.
- **Konstantin M. Korytov** – Senior Researcher, Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. konstmikhkor@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-1137-6049.
- **Darya D. Bryukhova** – Research, Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. darabrukhov@mail.ru. ORCID: 0000-0002-5589-9522.
- **Anna B. Pyatidesyatnikova** – Junior Research, Laboratory of Pathophysiology, FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. adm@chumin.irkutsk.ru. ORCID: 0000-0002-6381-4517.
- **Sergey V. Balakhonov** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Director of the FGHI Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. balakhonov.irk@mail.ru. ORCID: 0000-0003-4201-5828.

Received: 22.01.2025. Accepted: 28.01.2025.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.