

<https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-87-97>

## Оценка иммунологической эффективности вакцинации населения против чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге

К. М. Корытов<sup>1</sup>, В. В. Войткова<sup>1</sup>, В. И. Дубровина\*<sup>1</sup>, А. К. Носков<sup>1</sup>, А. И. Мищенко<sup>2</sup>,  
Е. П. Михайлов<sup>2</sup>, С. В. Балахонов<sup>1</sup>, Л. В. Щучинов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора

<sup>2</sup> ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, г. Горно-Алтайск

<sup>3</sup> Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, г. Горно-Алтайск

### Резюме

**Актуальность.** Чума – это опасное природно-очаговое бактериальное заболевание, включенное в перечень болезней, подлежащих санитарной охране территории на национальном и международном уровнях, и способное формировать чрезвычайную ситуацию в общественном здравоохранении. В 2014–2016 гг. в Республике Алтай зарегистрировано 3 случая бубонной чумы среди местных жителей, что послужило поводом для проведения комплекса профилактических мероприятий.

В настоящей работе представлены результаты комплексного исследования иммунного статуса людей, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы, проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага.

**Материалы и методы.** Исследование полученного от 60 добровольцев клинического материала включало определение функциональной активности фагоцитирующих клеток в НСТ-тесте, продукции цитокинов IFN- $\gamma$ , IL-4 и TNF- $\alpha$ , титров специфических антител IgG к капсульному антигену чумного микроба и концентраций основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови иммуноферментным анализом, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови посредством проточной цитофлуориметрии и определение аллелей генов HLA II класса полимеразной цепной реакции. **Результаты.** Материалы сравнительного исследования позволили установить ряд важнейших параметров, свидетельствующих об активации звеньев как клеточного, так и гуморального иммунитета организма людей, вакцинированных против чумы. Определены часто встречаемые аллели генов HLA-DRB1, HLA-DQB1 и HLA-DQA1. Выявлены их возможные ассоциации с уровнем продукции TNF- $\alpha$  и IL-4, а также с относительным содержанием Т-хелперов и CD3-CD16+ -клеток. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют об иммунной перестройке организма людей, вакцинированных против чумы. В условиях обострения эпидемиологической обстановки подтверждена относительная иммунологическая эффективность и безопасность живой чумной вакцины. Тем не менее, для полноценной характеристики иммунологической реактивности людей, вакцинированных (ревакцинированных) живой чумной вакциной, и совершенствования стратегии специфической профилактики чумы в природных очагах этой инфекции необходим дальнейший иммунологический мониторинг.

**Ключевые слова:** природный очаг чумы, вакцинация, чума, иммуноглобулин, цитокин, кровь, HLA

**Конфликт интересов не заявлен.**

**Для цитирования:** Корытов К. М., Войткова В. В., Дубровина В. И. и др. Оценка иммунологической эффективности вакцинации населения против чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2018; 17 (6): 87–97. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-6-87-97>

### Immunological Efficiency of Human Plague Vaccination in the Gorno-Altai High-Mountain Natural Plague Focus

K. M. Korytov<sup>1</sup>, V. V. Voitkova<sup>1</sup>, V. I. Dubrovina\*<sup>1</sup>, A. K. Noskov<sup>1</sup>, A. I. Mishchenko<sup>2</sup>, E. P. Mikhailov<sup>2</sup>, S. V. Balakhonov<sup>1</sup>, L.V. Schuchinov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Antiplague Research Institute of Rosпотребнадзор

<sup>2</sup> Altai Antiplague Station of Rosпотребнадзор, Gorno-Altai, Russia

<sup>3</sup> Department of Rosпотребнадзор in the Republic of Altai, Gorno-Altai, Russia

\* Для переписки: Валентина Ивановна Дубровина – д. б. н., заведующая лабораторией патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора. ([dubrovina-valya@mail.ru](mailto:dubrovina-valya@mail.ru)). ©Корытов К. М. и др.

\* For correspondence: Valentina I. Dubrovina – doctor of biological sciences, senior scientific officer, head of the department of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор. ([dubrovina-valya@mail.ru](mailto:dubrovina-valya@mail.ru)). ©Korytov K. M. et al.

**Abstract**

**Background.** Plague is a dangerous natural-focal bacterial disease that can cause emergencies of interstate significance. In 2014–2016, three bubonic plague cases were registered among local residents in the Republic Altai. This circumstance was the reason for implementation of complex preventive measures. Comprehensive studies of the immune status of humans vaccinated (revaccinated) with live plague vaccine are presented in this paper. These people constantly reside and work at the territory of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus. **Methodology.** The study of the clinical material (blood) from 60 volunteers included the determination of the functional activity of phagocytic cells, the production of IFN- $\gamma$ , IL-4 and TNF- $\alpha$  cytokines, the titre of specific IgG anti-bodies to the capsular antigen of the plague microbe and the concentrations of the main classes of immunoglobulins in blood serum by enzyme immunoassay, as well as immunophenotyping of blood lymphocytes through flow cytometry and the de-termination of the alleles of HLA class II genes by a polymerase chain reaction. **Results.** The materials of these studies made it possible to determine a number of important parameters indicative of the cellular and humoral immunity activation in humans immunized against plague. Frequently occurring alleles of the HLA-DRB1, HLA-DQB1 and HLA-DQA1 genes were defined. Possible associations of these alleles with the levels of TNF- $\alpha$  and IL-4 production, as well as with the relative content of T-helpers and CD3-CD16+ cells were revealed. **Conclusions.** The obtained results indicate the immune reconstruction of the humans immunized against the plague. The immunological efficiency and safety of live plague vaccine were confirmed during the exacerbation of the epidemiological situation in active natural plague focus. Nevertheless, further immunological monitoring is necessary to fully characterize the immunological reactivity of the humans vaccinated (revaccinated) with live plague vaccine, and to improve the strategy for specific plague prevention in natural foci.

**Key words:** natural plague focus, vaccination, plague, immunoglobulin, cytokine, blood, HLA

**No conflict of interest to declare.**

**For citation:** Korytov K. M., Voitkova V. V., Dubrovina V. I. et al. Immunological Efficiency of Human Plague Vaccination in the Gorno-Altai High-Mountain Natural Plague Focus. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2018; 17 (6): 87-97. (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2018-17-6-87-97>

**Введение**

Как известно, чума – это опасное природно-очаговое бактериальное заболевание, возбудителем которого является *Yersinia pestis*, уносившее в прошлом сотни тысяч человеческих жизней [1, 2]. Однако и по сей день эта болезнь представляет для людей большую угрозу несмотря на успехи медицины в ее диагностике, лечении и профилактике [3–5].

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы. В настоящее время самым активным как в эпизоотологическом, так и в эпидемиологическом отношении является Горно-Алтайский высокогорный природный очаг, расположенный на территории Кош-Агачского района Республики Алтай [6]. Повышение эпидемического потенциала этого очага связывают с появлением штамма возбудителя чумы основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* с высокой вирулентностью [7]. Так, в 2014–2016 гг. в этом районе зарегистрировано 3 случая заболевания местных жителей бубонной формой чумы [8, 9]. Данное обстоятельство послужило причиной проведения комплекса противозидемических мероприятий, включающих массовый охват населения, проживающего на данной территории, профилактической иммунизацией согласно Федеральному закону от 17.09.1998 № 157 ФЗ «Об иммунопрофилактике инфекционных болезней» и Приказу Минздрава Российской Федерации от 21.03.2014 г. №125н «О национальном календаре профилактических прививок и календаре профилактических прививок по эпидемическим показаниям».

В Российской Федерации для специфической профилактики чумы применяется живая чумная вакцина (ЖЧВ) на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ производства ФКУЗ «Ставропольский НИПЧИ» Роспотребнадзора. Данный препарат имеет государственную регистрацию и вызывает развитие иммунитета длительностью до года [10, 11].

Поскольку в настоящее время отсутствуют утвержденные стандарты для оценки уровня поствакцинального иммунитета у людей, вакцинированных ЖЧВ, актуальным направлением исследований является изучение истинного состояния их иммунитета (фактической привитости) и поиск маркеров [12], свидетельствующих о его напряженности.

**Цель работы** – оценить состояние ряда показателей клеточного и гуморального иммунитета у вакцинированных (ревакцинированных) ЖЧВ людей, постоянно проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы.

**Материалы и методы**

В работе изучены показатели иммунитета у 60 добровольцев, ранее не вакцинированных против чумы, проживающих в с. Кош-Агач (Кош-Агачский район, Республика Алтай, Россия) и давших письменное информированное добровольное согласие для участия в исследовании. Критерием включения в исследование служили: отсутствие в анамнезе вакцинации и противопоказаний к вакцинации ЖЧВ в соответствии с инструкцией по применению данной вакцины, возраст не моложе 18 лет и отсутствие аллергических заболеваний. Работа была одобрена в 2016 г. Комитетом

по биомедицинской этике при Иркутском противочумном научно-исследовательском институте.

По этническому признаку распределение в исследуемой группе было следующим: казахи – 73%, алтайцы – 20% и русские – 7%. При этом из всей группы 77% женщин и 83% мужчин входили в возрастную группу от 25 до 50 лет. Большая часть женщин (90%) были медицинскими работниками.

Вакцинацию и ревакцинацию людей проводили медицинские работники БУЗ РА «Кош-Агачская РБ» в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.7.2492-09 «Профилактика чумы» однократно накожным способом с использованием коммерческой ЖЧВ (ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора), которая представляет собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV линии НИИЭГ. Ревакцинацию осуществляли через 12 месяцев.

Забор клинического материала (периферическая кровь) из локтевой вены проводили непосредственно перед вакцинацией (1 срок наблюдения), через 1 (2 срок), 6 (3 срок) и 12 месяцев (4 срок) после вакцинации, а также через 1 (5 срок), 3 (6 срок) и 6 месяцев (7 срок) после ревакцинации с помощью вакуумных систем для взятия крови (Improve, Китай и Vacutest Kima, Италия). Из крови выделяли сыворотку по стандартной методике (кровь с активатором свертывания и гелем отстаивали при комнатной температуре не менее 30 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин). Для определения уровня продукции цитокинов кровь с антикоагулянтом (гепарин) предварительно смешивали с питательной средой RPMI 1640 (ООО «ПанЭко», Россия), содержащей 100 мкг/мл гентамицина (ООО «ПанЭко», Россия), в соотношении 1:4. В опытные пробы вносили по 100 мкл Т-клеточного митогена конканавалин А (ООО «ПанЭко», Россия) в концентрации 15 мкг/мл, а в контрольную – забуференного физиологического раствора (ЗФР), и инкубировали 24 ч при 37 °С.

Полученный клинический материал исследовался согласно разработанным в РосНИПЧИ «Микроб» методическим рекомендациям «Оценка уровня иммунитета у лиц, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы» (Саратов, 2015 г.). Исследование включало определение функциональной активности фагоцитирующих клеток, спонтанной и митогениндуцированной продукции биомаркерных цитокинов (IFN- $\gamma$ , IL-4, TNF- $\alpha$ ) клеток крови, титров специфических антител IgG к капсульному антигену F1 чумного микроба и концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) в сыворотке крови, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19) и определение аллелей генов HLA II класса методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Определение функциональной активности фагоцитирующих клеток проводили в тесте

восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) с микропланшетным фотометрическим способом учета, для чего периферическую кровь с гепарином смешивали с 3% раствором желатина в соотношении 1:3 и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. После отбирали верхний слой и центрифугировали 10 мин при ускорении 200 g (1000 об/мин) на холоде. Взвесь лейкоцитов трижды промывали раствором Хенкса, ресуспендировали в среде 199 (ООО «ПанЭко», Россия) и доводили до концентрации  $2,0 \cdot 10^6$  кл/мл. НСТ-тест проводили в двух вариантах согласно методическим рекомендациям: спонтанном и индуцированном (с внесением в инкубационную среду индуктора – латекса (ООО «ПанЭко», Россия)). Оптическую плотность (ОП) определяли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 630 нм. Рассчитывали индекс активации (ИА): ОП опыт/ОП контроль.

Количественное определение уровня цитокинов в спонтанной/индуцированной Т-клеточным митогеном конканавалином А пробах и основных классов иммуноглобулинов оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (р. п. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкциям производителя. Концентрацию цитокинов выражали в пг/мл, а иммуноглобулинов – в мг/мл (классы М, G и A) и МЕ/мл (класс E). Для оценки титра специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микроба использовали иммуноферментную тест-систему «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов). Учет оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США).

Фенотип лимфоцитов определяли с использованием сертифицированных моноклональных антител (МКАТ, производства Becton Dickinson, США) в панели: CD3-PE-Cy7, CD4-PerCP, CD8-APC-Cy7, CD16-PE, CD19-FITC, для чего готовили коктейль МКАТ в соответствии с инструкцией производителя. В пробирку для цитофлуориметрического анализа добавляли 50 мкл крови с ЭДТА и 75 мкл коктейля МКАТ, перемешивали на вортексе и инкубировали при 4 °С в темноте в течение 30 мин. Лизис эритроцитов проводили с помощью BD FACSTM Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Затем образцы центрифугировали при 300 g в течение 5 мин с последующим двукратным отмыванием ЗФР. По завершении процесса отмывания клеток осажденные лейкоциты ресуспендировали в 450 мкл ЗФР. Анализ окрашенных МКАТ образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе анализировалось не менее 10000 клеток. Для изучения клеточного звена определяли следующие субпопуляции лимфоцитов: Т-лимфоциты

(CD3<sup>+</sup>), Т-хелперы (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), NK-клетки (CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) и В-лимфоциты (CD19<sup>+</sup>). Рассчитывали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по формуле: CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> у.е.

Аллели генов гистосовместимости HLA II класса определяли с помощью коммерческих наборов реагентов для типирования генов DRB1, DQB1 и DQA1 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени согласно инструкции производителя. Для этого предварительно выделяли ДНК из периферической крови с ЭДТА с помощью комплектов реагентов Проба-Рapid-Генетика и Проба-ГС-Генетика (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) согласно руководству по применению. Детекцию результатов осуществляли на амплификаторе детектирующем ДТПрайм (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) в программном обеспечении RealTime\_PCR версии 7.3.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическими критериями Уилкоксона и Фридмана для парных и множественных сравнений соответственно, корреляционного анализа Спирмена (rs) и критерия согласия хи-квадрат. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25% – Q75%). При этом различия считали достоверными при уровне значимости P < 0,05.

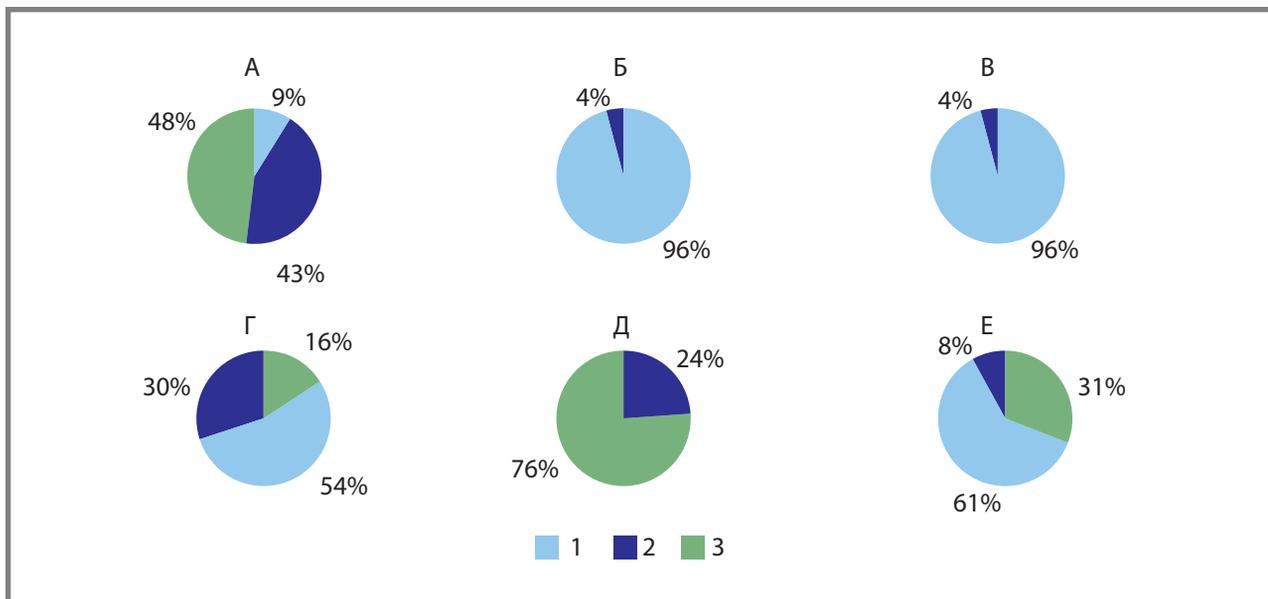
**Результаты и обсуждение**

В процессе исследования в динамике сывороток крови, полученных от людей, проживающих на территории Горно-Алтайского природного очага чумы, ранее нами было показано, что через месяц после прививки ЖЧВ процент положительной сероконверсии не достигает 100% (рис. 1) [13]. По нашим результатам, сероконверсия, т.е. 4-кратный прирост титра антител к F1 *Y. pestis* по сравнению с исходным уровнем, отмечалась в 91% случаев, при этом средний титр был равен 1:197,6. Тем не менее, только у 48% вакцинированных зафиксирован уровень специфических антител к F1 чумного микроба, превышающий диагностический титр 1:80. Однако уже через 6 месяцев лишь в 4% случаев титр специфических IgG к фракции 1 чумного микроба соответствовал уровню диагностического [13]. Аналогичная картина наблюдалась и через год после вакцинации ЖЧВ.

Данные, полученные через месяц после ревакцинации, показали, что титр специфических IgG к капсульному антигену чумного микроба превышал уровень диагностического только в 16%, а через 3 месяца – в 76% случаев. Примечательно то, что через 3 месяца после ревакцинации уровень сероконверсии внутри исследуемой группы достигал 100% и спустя полгода сохранялся у 39% ревакцинированных людей. Следует отметить, что через полгода после ревакцинации уровень сероконверсии был достоверно выше по сравнению с аналогичным показателем после вакцинации (P = 0,001). Кроме того, высокие титры IgG к F1

**Рисунок 1.**

**Процентное соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных/ревакцинированных ЖЧВ**  
**Figure 1. Percentage titres of antibodies to F1 *Y. pestis* in humans vaccinated/revaccinated with live plague vaccine**



Примечание: 1 – титр АТ меньше диагностического; 2 – титр АТ на уровне диагностического; 3 – титр АТ выше диагностического; А – через месяц после вакцинации; Б – через 6 месяцев после вакцинации; В – через 12 месяцев после вакцинации; Г – через месяц после ревакцинации; Д – через 3 месяца после ревакцинации; Е – через 6 месяцев после ревакцинации.  
 Note: 1 – antibody titre is less than diagnostic; 2 – antibody titre at the diagnostic level; 3 – antibody titre higher than diagnostic; A – 1 month after vaccination; B – 6 months after vaccination; B – 12 months after vaccination; D – 1 month after the revaccination; D – 3 months after the revaccination; E – 6 months after the revaccination.

Таблица 1.

Основные классы иммуноглобулинов, Me (Q25–Q75%)

Table 1. The major classes of immunoglobulins, Me (Q25–Q75%)

Показатель Index	До вакцинации Before vaccination	После вакцинации, месяц After vaccination, month			После ревакцинации, месяц After revaccination, month		
		1	6	12	1	3	6
IgE общ. (МЕ/мл)	7,5 (3,0–18,5)	20,5 (3,0–49,0)*	11,0 (4,0–47,5)***	15,0 (6,0–42,0)**	20,0 (10,0–52,0)***	6,0 (2,0–18,0)	16,0 (4,0–26,0)
IgM (мг/мл)	2,1 (1,7–2,5)	2,3 (1,6–3,4)**	1,5 (1,0–2,1)***	0,8 (0,5–1,2)***	0,7 (0,6–1,0)***	1,9 (1,6–2,4)	2,4 (0,8–4,9)
IgA (мг/мл)	1,8 (1,2–2,6)	2,4 (1,5–3,5)**	1,3 (0,7–1,9)***	1,3 (0,9–2,2)	1,5 (1,3–2,1)	1,7 (1,2–2,4)	0,9 (0,4–2,0)*
IgG (мг/мл)	15,7 (9,8–24,2)	14,2 (10,7–24,3)	10,3 (6,0–15,1)***	14,8 (5,6–25,0)	12,3 (8,6–20,4)	16,0 (9,0–23,2)	13,2 (7,1–19,8)

Примечание: \*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001 уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Note: \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001 – in comparison with the index before vaccination.

чумного микроба были статистически значимо выше в группе казахов (P = 0,039).

При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови людей индикаторной группы установлено статистически значимое повышение концентрации общего IgE через 1, 6, 12 месяцев после проведения вакцинации и месяц после ревакцинации в среднем в 2,2 раза по сравнению со значениями данного показателя до проведения специфической профилактики (табл. 1). Установлено, что уровни IgM и IgA через месяц после вакцинации людей против чумы тоже были достоверно выше (P < 0,01). Выявлена корреляционная связь между концентрациями этих иммуноглобулинов (rs = 0,46, P = 0,0002), которая возрастала на 3-й (rs = 0,63, P < 0,0001) и 4-й (rs = 0,69, P < 0,0001) сроки наблюдения. Снижение концентрации IgA имело фазный характер и наблюдалось через 6 месяцев после вакцинации/ревакцинации, в то время как уровень IgM падал к 6 месяцу после вакцинации и сохранял относительно низкие значения до 5 срока наблюдения. Также имело место достоверное снижение концентрации IgG через полгода после проведения прививки (P < 0,001). Достоверных различий в последующие сроки наблюдения не выявлено. При этом все выявленные изменения концентраций основных классов иммуноглобулинов варьировали в пределах референсных значений [14, 15].

Цитокины периферической крови отражают текущее состояние работы иммунной системы и развития защитных реакций. Согласно литературным данным, клеточно-опосредованный противочумный иммунный ответ развивается по доминирующему Th1 пути, который характеризуется появлением патоген-специфических Т-лимфоцитов (Т-хелперы 1 типа), синтезирующих IFN-γ и TNF-α [16]. IFN-γ регулирует иммунный ответ и выраженность воспалительных реакций и является мощным активатором макрофагов, гранулоцитов, клеток эндотелия и индуктором экспрессии молекул главного

комплекса гистосовместимости; TNF-α способствует увеличению числа Т- и В-лимфоцитов и является основным стимулятором для нейтрофилов и эндотелиальных клеток, способствуя их адгезии и дальнейшему хемотаксису в очаг воспаления [17].

Для определения цитокин-секреторной функции иммунокомпетентных клеток оценивали продуцирующую способность клеток в спонтанной и индуцированной пробах в культуральной среде методом иммуоферментного анализа. При этом спонтанная продукция цитокинов в культуре свидетельствует о том, что клетки уже активированы *in vivo* в результате развития воспаления или иммунопатологических процессов, в то время как индуцированная продукция цитокинов – о потенциальных возможностях активации клеток, что очень важно для оценки иммунологической реактивности.

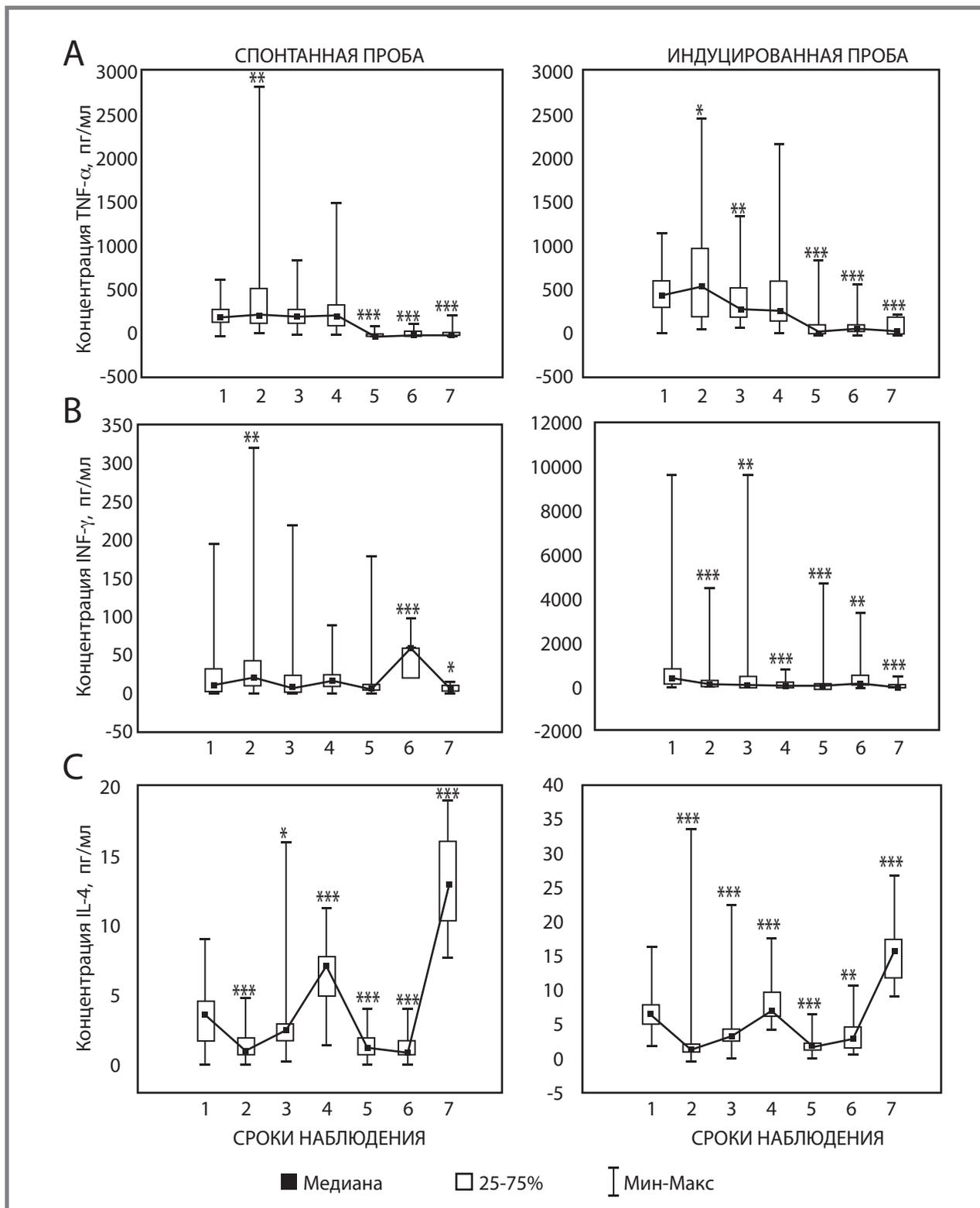
Обнаружены значительные изменения и в системе цитокинового статуса жителей Кош-Агаского района, вакцинированных ЖЧВ. Установлено, что у 56% обследованных лиц происходит через месяц после вакцинации повышение концентрации TNF-α в 1,2 раза в спонтанной и индуцированной пробах (рис. 2, А). Это свидетельствует об активации клеток организма, продуцирующих TNF-α в условиях *in vivo*. Обращает на себя внимание тот факт, что продукция этого цитокина после ревакцинации снижалась в среднем в 39,5 раза по сравнению с аналогичными показателями после вакцинации (P < 0,001). Тем не менее, его уровень находился в пределах референсных значений (1–87 пг/мл). Следует отметить, что у всех обследованных лиц митогенная стимуляция вызывала достоверное повышение выработки TNF-α клетками периферической крови в среднем в 3,9 раза по сравнению с их спонтанной продукцией во все сроки наблюдения (P < 0,001).

Подобная тенденция была характерна и для IFN-γ: статистически значимое повышение уровня содержания через месяц после вакцинации в спонтанных пробах у 65% обследованных лиц

**Рисунок 2.**

**Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и IL-4) у людей, вакцинированных/ревакцинированных ЖЧВ, Me (Q25-Q75%)**

**Figure 2. Spontaneous and induced production of cytokines (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-4) in humans vaccinated/revaccinated with live plague vaccine, Me (Q25-Q75%)**



Примечание: А – концентрация TNF- $\alpha$  в спонтанной/индуцированной пробах, В – концентрация IFN- $\gamma$  в спонтанной/индуцированной пробах, С – концентрация IL-4 в спонтанной/индуцированной пробах; сроки наблюдения: 1 – до вакцинации, 2 – через месяц после вакцинации, 3 – через 6 месяцев после вакцинации, 4 – через 12 месяцев после вакцинации, 5 – через 1 месяц после ревакцинации, 6 – через 3 месяца после ревакцинации, 7 – через 6 месяцев после ревакцинации; \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ , \*\*\* $P < 0,001$  по сравнению с показателем до вакцинации.

Note: A – concentration of TNF- $\alpha$  in spontaneous/induced samples, B – concentration of IFN- $\gamma$  in spontaneous/induced samples, C – concentration of IL-4 in spontaneous/induced samples; periods of observation: 1 – before vaccination, 2 – 1 month after vaccination, 3 – 6 months after vaccination, 4 – 12 months after vaccination, 5 – 1 month after revaccination, 6 – 3 months after revaccination, 7 – 6 months after the revaccination; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  – in comparison with the index before vaccination

в 1,8 раза ( $P < 0,05$ ) и достоверно высокое по отношению к спонтанным – в индуцированных пробах (рис. 2, В). Увеличение уровня IFN- $\gamma$  также наблюдалось через 3 месяца после ревакцинации ( $P < 0,001$ ) с последующим статистически значимым снижением к 7 сроку исследования. Показано снижение концентрации IFN- $\gamma$  в митоген-индуцированной пробе в сравнении с аналогичным показателем до вакцинации. У всех обследованных лиц митогенная стимуляция вызывала достоверное повышение выработки IFN- $\gamma$  клетками периферической крови в среднем в 14,9 раза по сравнению с их спонтанной продукцией во все сроки наблюдения ( $P < 0,001$ ). Выявлена взаимосвязь между изменением концентрации IFN- $\gamma$  и национальностью людей индикаторной группы ( $P = 0,0008$ ): у казахов наблюдалось более выраженное повышение концентрации IFN- $\gamma$ .

Не менее значимую роль в развитии иммунитета играют Т-хелперы 2 типа (Th2), которые активируют В-лимфоциты, способствуя развитию гуморального иммунного ответа, и, в частности, продуцируют IL-4. Этот цитокин является костимулятором В-клеток и способствует продукции ими антител IgE.

Иммуноферментный анализ количественного определения IL-4 показал (рис. 2, С), что статистически значимое снижение концентрации лимфокина у людей, вакцинированных ЖЧВ, имело место через 1, 6 месяцев после вакцинации и 1, 3 месяца после ревакцинации живой чумной вакциной в сравнении с аналогичным показателем до вакцинации как в спонтанной (3,4 и 1,5 раза соответственно), так и в индуцированной пробах (4,5 и 1,9 раза соответственно). На 7 срок проведения исследования установлено значительное повышение концентрации IL-4 по сравнению с исходным уровнем.

Известно, что направленность специфического иммунного ответа напрямую зависит от пути дифференцировки CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток в Th1 или Th2 клетки [15, 18]. Поскольку эти две популяции Т-лимфоцитов находятся в антагонистических отношениях, наиболее показательным параметром оценки функционального баланса Th1/Th2 является соотношение IFN- $\gamma$ /IL-4. Так, увеличение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 свидетельствует о повышении функциональной активности Th1, а уменьшение данного соотношения – Th2-лимфоцитов.

Результаты исследований показали, что через месяц после вакцинации только в 4% случаев наблюдалось смещение в сторону функциональной активности Th2 и снижение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 по сравнению с исходным показателем. В то же время у 96% обследованных установлено повышение активности Th1, что сопровождалось увеличением концентрации IFN- $\gamma$  и соответственно соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4. Это может свидетельствовать о сдвиге после вакцинации в сторону клеточного иммунного ответа. В последующие сроки исследования наблюдалась аналогичная картина – преобладание

клеточного иммунитета. Можно предположить, что недостаточная выработка IL-4 на 5 и 6 сроки приводит к супрессии Th2-лимфоцитов, соответственно, к увеличению показателя IFN- $\gamma$ /IL-4. Кардинальное изменение соотношения Th1 к Th2 имело место через 6 месяцев после ревакцинации – в 92% случаев происходило увеличение концентрации IL-4 к IFN- $\gamma$  и, соответственно, преобладание гуморального иммунитета.

Наличие специфических антител к антигенам *Yersinia pestis* не всегда коррелирует с защитой организма от чумной инфекции, тем более, что ведущая роль в формировании противочумного иммунитета принадлежит клеточным факторам иммунитета. Одним из основных методов оценки функциональной активности клеток иммунной системы, в частности фагоцитирующих, является НСТ-тест. Этот метод позволяет не только выявлять фагоцитирующие нейтрофилы, но и характеризовать их ферментные системы.

В результате проведенных исследований установлено, что у людей, проживающих на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, ИА фагоцитов непосредственно до проведения вакцинации ЖЧВ составил 0,6 (0,5; 1,1) у.е. с последующим повышением фагоцитарной активности клеток макроорганизма во все сроки наблюдения, но показатели не превышали значений физиологической нормы – 1,3 [19]. Стоит отметить, что через 1 и 3 месяца после ревакцинации эти изменения носили статистически значимый характер. Обращает на себя внимание тот факт, что ИА после ревакцинации через месяц был достоверно выше, чем после вакцинации ( $P = 0,008$ ). Таким образом, выявленные изменения показателей неспецифической резистентности организма в НСТ-тесте указывают на повышение функциональной способности фагоцитирующих клеток после ревакцинации.

Известно, что Т-лимфоциты являются наиболее быстро реагирующими на воспалительный процесс иммунокомпетентными клетками. Поэтому оценка их содержания – один из наиболее информативных показателей при изучении состояния иммунной системы. Как правило, развитие воспалительного процесса разной этиологии сопровождается снижением относительного содержания Т-лимфоцитов, причем интенсивность воспалительного процесса зависит от степени снижения данного показателя. В ходе исследования изменений процентного содержания CD3<sup>+</sup>-клеток после вакцинации ЖЧВ зарегистрировано не было (рис. 3, А). Тем не менее, наблюдалась тенденция ( $P = 0,09$ ) к повышению данного показателя через месяц после вакцинации/ревакцинации. Необходимо отметить, что статистически значимое понижение данного показателя в среднем в 1,1 раза по сравнению с исходным (до вакцинации) имело место через 3 месяца после ревакцинации, что, вероятно, связано с формированием гуморального иммунного ответа.

Изменений процентного содержания CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>-клеток во все исследуемые периоды не было отмечено (рис. 3, С). В то же время после ревакцинации наблюдались статистически значимые сдвиги содержания Т-хелперов, которые сопровождалось изменениями ИРИ – повышение на 5 и его снижение на 6 сроки наблюдения за счет Т-хелперов (табл. 2). Выявленное на 6 срок снижение CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток нельзя рассматривать как неблагоприятный признак, поскольку их процентное содержание находилось в пределах референсных значений (рис. 3, В). Стоит отметить, что на 2 срок исследования отмечалась тенденция ( $P = 0,07$ ) к повышению относительного содержания CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток.

Динамика содержания В-клеток крови отражает текущий вакцинальный процесс: после ревакцинации повышение их относительного содержания (рис. 3, D). Причем у казахов имела место тенденция к повышению данной характеристики на 6 срок. В ходе корреляционного анализа была отмечена связь количественных показателей содержания В-клеток на 2 срок наблюдения с уровнем IFN- $\gamma$  ( $rs = -0,52$ ,  $P = 0,049$ ).

Известно, что натуральные киллеры (НК) относятся к клеточным факторам неспецифической резистентности, которые лизируют клетки-мишени, инфицированные вирусами и другими внутриклеточными агентами. Нами показано, что динамика содержания НК имела фазный характер со статистически значимым повышением через 6 месяцев после вакцинации и 3 месяца после ревакцинации (рис. 3, E). Возможно, данные изменения не связаны с иммунным ответом на ЖЧВ. Для раскрытия механизмов участия НК в развитии поствакцинального противочумного иммунитета необходимы дальнейшие исследования.

Важными антигенами, обеспечивающими кооперацию клеток иммунной системы, являются антигены HLA класса II (HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR). Гены MHC II класса (локусы DP, DQ, и DR) наиболее полиморфны. Известно, что функциональная активности Т- и В-лимфоцитов, киллерная активность НК-клеток, уровень иммуноглобулинов являются наследственными факторами и находятся в ассоциативной связи с определенными HLA-антигенами. Причем генетически детерминированные различия в силе иммунного ответа не меняются в течение жизни. Молекулы HLA II класса экспрессируются

на антигенпредставляющих клетках и опосредуют взаимодействие CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-клеток, В-лимфоцитов и макрофагов в иммунном ответе.

Нами определены аллельные варианты генов HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR класса II у 60 жителей с. Кош-Агач Республики Алтай. В ходе анализа данных в индикаторной группе были отмечены следующие часто встречаемые аллели генов: HLA-DRB1\*03, \*04, \*07, \*08, \*11, \*13; HLA-DQB1\*02, \*03:01 и HLA-DQA1 \*05:01, при этом HLA-DRB1\*03 (22%), \*07 (21%) чаще у казахов. По распределению аллелей данного гена среди русских и алтайцев не отмечено часто встречаемых. По отношению к гену HLA-DQB1 можно выделить аллель \*03:01, который встречается в 38–77% среди казахов, алтайцев и русских. Более 50% казахов индикаторной группы имеют аллель HLA-DQB1\*02. Стоит отметить, что аллель HLA-DQB1\*05:03 была зарегистрирована лишь у 12% казахов, а HLA-DQB1\*05:02/\*05:04 – у 33% русских. Что касается распределения аллели HLA-DQA1\*05:01, то она выявлена у 62% казахов и алтайцев, а также у 100% русских индикаторной группы.

При изучении взаимосвязей между титрами специфических антител к F1 чумного микроба и часто встречаемыми аллелями генов HLA класса II статистически значимых ассоциаций не выявлено.

При анализе корреляций аллелей генов HLA класса II с продукцией цитокинов установлено, что HLA-DQB1\*02 предположительно ассоциирован с повышением синтеза TNF- $\alpha$  на начальных этапах исследования ( $P = 0,027$ ). Изменения концентрации IL-4, возможно, зависят от наличия в гаплотипе HLA класса II аллелей генов HLA-DQB1\*02 и HLA-DQA1\*05:01

Дальнейшая работа по выявлению ассоциации аллелей генов HLA класса II с показателями клеточного иммунитета показала наличие взаимосвязей HLA-DQB1\*03:01 с содержанием CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>-клеток.

Таким образом, определены аллельные варианты генов HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR класса II у людей, проживающих в с. Кош-Агач Республики Алтай, часто встречаемые аллели генов HLA-DRB1\*03, \*04, \*07, \*08, \*11, \*13; HLA-DQB1\*02, \*03:01 и HLA-DQA1 \*05:01 и их возможные взаимосвязи с показателями иммунного статуса после вакцинации/ревакцинации ЖЧВ.

**Таблица 2.**

**Иммунорегуляторный индекс, Me (Q25%–Q75%)**

**Table 2. Immunoregulatory index, Me (Q25% -Q75%)**

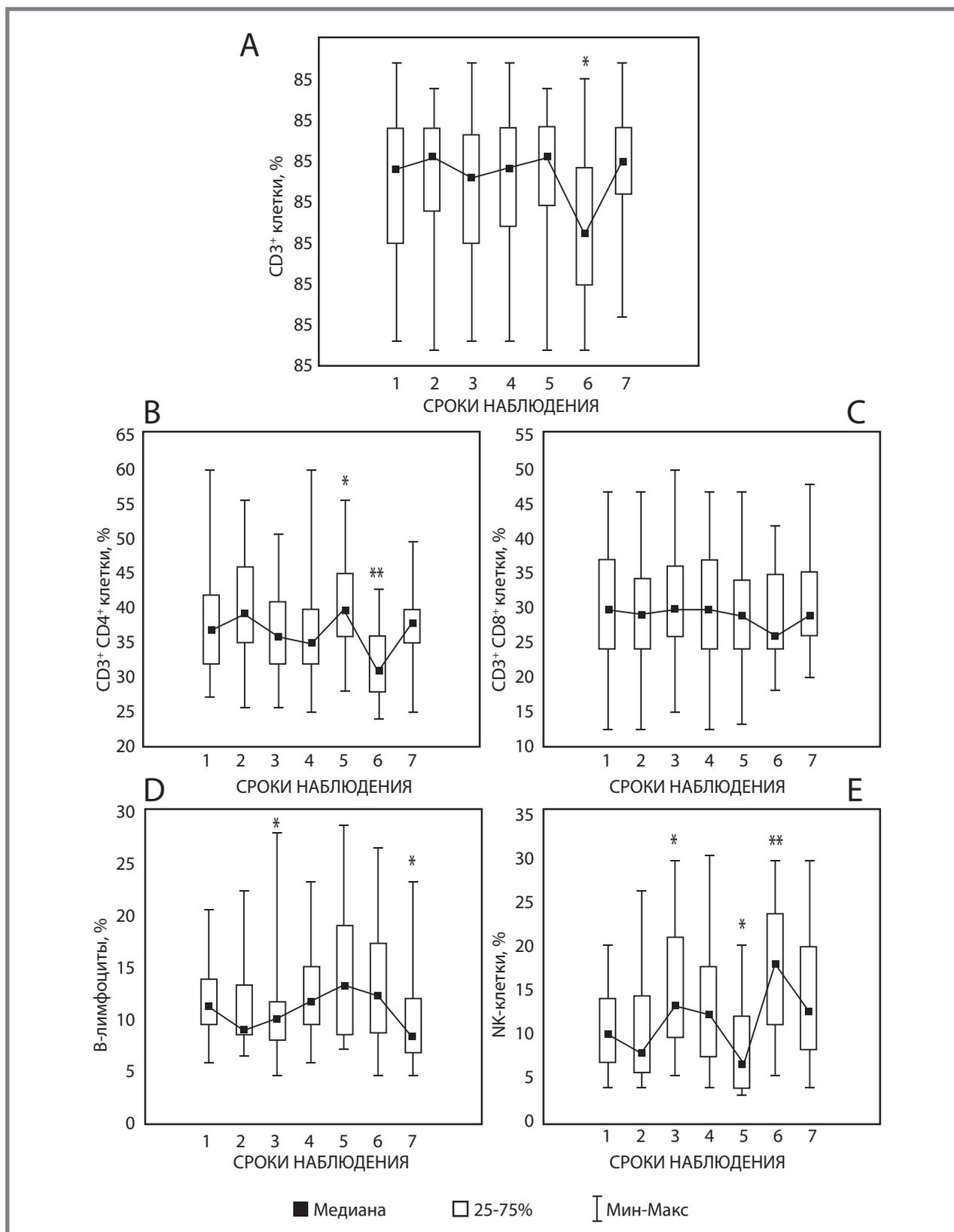
Показатель Index	До вакцинации Before vaccination	После вакцинации, месяц After vaccination, month			После ревакцинации, месяц After revaccination, month		
		1	6	12	1	3	6
ИРИ	1,1 (1,0–1,5)	1,3 (1,1–1,7)	1,2 (0,9–1,5)	1,2 (1,0–1,5)	1,4 (1,1–1,7)*	1,1 (0,9–1,4)*	1,3 (1,1–1,5)

Примечание: \* $P < 0,05$  по сравнению с исходными (до вакцинации).  
Note: \* $P < 0.05$  in comparison with the index before vaccination.

Рисунок 3.

Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных/ревакцинированных против чумы людей, Me (Q25–Q75%)

Figure 3. Content dynamics of natural killers, T- and B-lymphocytes in the blood of humans vaccinated / revaccinated against plague, Me (Q25 –Q75%)



Примечание: сроки наблюдения: 1 – до вакцинации, 2 – через месяц после вакцинации, 3 – через 6 месяцев после вакцинации, 4 – через 12 месяцев после вакцинации, 5 – через месяц после ревакцинации, 6 – через 3 месяца после ревакцинации, 7 – через 6 месяцев после ревакцинации; \*P < 0,05; \*\*P < 0,01 по сравнению с показателем до вакцинации.

Note: periods of observation: 1 – before vaccination, 2 – 1 month after vaccination, 3 – 6 months after vaccination, 4 – 12 months after vaccination, 5 – 1 month after revaccination, 6 – 3 months after revaccination, 7 – 6 months after the revaccination; \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 in comparison with the index before vaccination.

Вместе с тем, для определения значимости HLA-генотипирования II класса при оценке поствакцинального противочумного иммунитета необходимо более детальное исследование с применением современных методов молекулярной биологии.

### Заключение

Результаты комплексного сравнительного иммунологического исследования иммунизированных живой чумной вакциной людей, проживающих и осуществляющих свою трудовую деятельность на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, позволили установить ряд важнейших параметров. Полученные данные свидетельствуют об активации звеньев гуморального иммунитета организма людей, вакцинированных против чумы. Кроме того, проведение ревакцинации ЖЧВ приводит к повышению уровня сероконверсии. Так, сероконверсия отмечалась в 91% случаев через месяц после вакцинации, в то время как через 3 месяца после ревакцинации этот показатель составил 100%. Тем не менее, уже через полгода после вакцинации/ревакцинации уровень специфических к капсульному антигену *Y. pestis* антител достоверно снижался.

Известно, что в развитии аллергических состояний играют важную роль не только IgE, непосредственно участвующий в развитии аллергических реакций, но и IL-4, который регулирует синтез этого иммуноглобулина. Выявленное отсутствие корреляционных взаимосвязей между этими показателями в ходе исследования может служить доказательством безопасности используемой вакцины. Кроме того, подтверждением этому является отсутствие изменений содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и показателей ИРИ в пределах референсных значений, т.к. для аллергических и аутоиммунных заболеваний характерно увеличение ИРИ более 3,5 у.е.

При изучении уровней биомаркерных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4) в спонтанной и индуцированной пробах уже на начальных этапах после вакцинации установлено развитие системного цитокинового ответа, который сопровождался увеличением концентрации TNF- $\alpha$  и активацией клеток (NK-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, Th1), продуцирующих IFN- $\gamma$ . При этом наблюдалось повышение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4, свидетельствующее о преобладании функциональной активности Th1-лимфоцитов и, соответственно, клеточной направленности иммунного ответа. Наряду с повышением уровня TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , увеличение концентраций IgA, IgM и IgE, а также специфических антител к F1 чумного микроба через месяц после вакцинации

свидетельствует о формировании гуморального иммунитета. Повышение концентрации IFN- $\gamma$  у вакцинированных/ревакцинированных имеет важное значение при формировании резистентности к возбудителю чумы, так как этот цитокин обладает большой иммуномодулирующей активностью. Следует отметить, что увеличение продукции цитокинов в митоген-индуцированных пробах является благоприятным признаком и говорит об отсутствии супрессорного влияния вакцины на организм человека.

В ходе исследования патологических изменений субпопуляционного состава лимфоцитов не было выявлено. Зарегистрировано снижение Т-лимфоцитов через 3 месяца после ревакцинации за счет повышения CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>-клеток. Возрастающее процентное содержание Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) в крови, увеличение значения индекса ИРИ и общая тенденция повышения функциональной активности иммунокомпетентных клеток в НСТ-тесте через месяц ревакцинации свидетельствуют о наличии адаптивного клеточного иммунитета, что играет важную роль в активации и пролиферации В-лимфоцитов.

Определены часто встречаемые аллели генов HLA-DRB1 \*03, \*04, \*07, \*08, \*11, \*13, HLA-DQB1 \*02, \*03:01 и HLA-DQA1 \*05:01. Выявлены возможные ассоциации этих аллелей с уровнем продукции TNF- $\alpha$  и IL-4, а также с относительным содержанием Т-хелперов и CD3<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>-клетками.

Таким образом, наличие положительной сероконверсии после вакцинации у подавляющего большинства людей, принявших участие в исследовании, свидетельствует об адекватной иммунной перестройке организма и выработке специфических защитных антител в ответ на введение ЖЧВ. Тем не менее, увеличение продукции TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , а также соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4 после вакцинации говорит о повышении активности Th1-клеток и развитии у людей клеточного иммунного ответа. В то же время как после ревакцинации происходит снижение соотношения IFN- $\gamma$ /IL-4, а также TNF- $\alpha$ , ассоциированного с Th1 клетками, что свидетельствует о сдвиге в сторону гуморального иммунитета. В целом после ревакцинации отмечаются более выраженные изменения показателей иммунного статуса людей индикаторной группы.

Несмотря на проведенный комплекс исследований, остается необходимость дальнейшего, более глубокого изучения иммунологической реактивности организма людей, проживающих в условиях активного природного очага чумы, с расширением спектра диагностических методик.

### Литература

1. Perry R.D., Fetherston J.D. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague // *Clin Microbiol Rev.* 1997. N 10. P. 35–66.
2. Henry R. *Etymology: Plague. Emerging Infectious Diseases* // 2018. Vol. 24, N 1. P. 102.
3. Ramasindrazana B., Andrianaivoarimanana V., Rako-tondramanga J.M., et al. *Pneumonic Plague Transmission, Moramanga, Madagascar, 2015* // *Emerging Infectious Diseases.* 2017. Vol. 23, N 3. P. 521–524.
4. Forrester J.D., Apangu T., Griffith K., et al. *Patterns of Human Plague in Uganda, 2008–2016* // *Emerging Infectious Diseases.* 2017. Vol. 23, N 9. P. 1517–1521.

- Li Y, Li D, Shao H, et al. Plague in China 2014 – All sporadic case report of pneumonic plague // *BMC Infect Dis*. 2016. N 16. P. 85.
- Балахонов С.В., Корзуна В.М. Горно-Алтайский природный очаг чумы: Ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр; 2014.
- Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., и др. Первый случай выделения *Yersinia pestis subsp. pestis* в Алтайском горном при родном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013. № 1. С. 60–65.
- Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., и др. Случай заболевания человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Вклад государств-участников сотрудничества независимых государств в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в современных условиях. Материалы XII Межгосударственной научно-практической конференции. Саратов; 2014. С. 130–132.
- Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., и др. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты // *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016. № 1. С. 55–60.
- Feodorova V.A., Sayarina L.V., Corbel M.J., et al. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens // *Emerg Microb Infect*. 2014. N 3. P. e86.
- Зверев В.В., Семенов Б.Ф., Хаитов Р.М., ред. Вакцины и вакцинация: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
- Шуковская Т.Н., Смолькова Е.А., Шмелькова Т.П., и др. Индуцированная продукция IFN- $\gamma$  и IL-4 как показатель функциональной активности Th1- и Th2-клеток у вакцинированных против чумы людей // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011. № 6. С. 78–83.
- Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., и др. Оценка иммунологической эффективности вакцинации против чумы в активном природном очаге. Сообщение 1. Цитокиновый и иммуноглобулиновый статус // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017. Т. 16, № 2. С. 45–49.
- Тотолян А.А. Современные подходы к диагностике иммунопатологических состояний // *Медицинская иммунология*. 1999. № 1. С. 75–108.
- Никуллин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
- Philipovskiy AV, Smiley S. T. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection // *Infection and Immunity*. 2007. Vol. 75, N 2. P. 878–885.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Иммунология: атлас. ГЭОТАР-Медиа; 2011.
- Roit A, Rostoff J, Mail D. Immunology. Moscow: Mir; 2000.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы: руководство для врачей. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2009.

## References

- Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10: 35–66.
- Henry R. *Etiologia: Plague. Emerging Infectious Diseases*. 2018;24(1):102. doi: 10.3201/eid2401.ET2401.
- Ramasindrazana B, Andrianaivoarimanana V, Rako-tondramanga JM, et al. Pneumonic Plague Transmission, Moramanga, Madagascar, 2015. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23 (3): 521–524. doi: 10.3201/eid2309.170789
- Forrester JD, Apangu T, Griffith K, et al. Patterns of Human Plague in Uganda, 2008–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23 (9): 1517–1521. doi: 10.3201/eid2309.170789.
- Li Y, Li D, Shao H, et al. Plague in China 2014 – All sporadic case report of pneumonic plague. *BMC Infect Dis*. 2016; 16: 85. doi: 10.1186/s12879-016-1403-8.
- Balakhonov SV, Korzun VM. Gorno-Altai natural plague focus: Retrospective analysis, epizootological monitoring, modern condition. Novosibirsk, Nauka-Tsentr [Science-Center]; 2014. (In Russ.)
- Balakhonov SV, Afanashev MV, Shestopalov MYu, et al. The First Case of *Yersinia pestis subsp. pestis* Isolation in the Territory of Altai Mountain Natural Plague Focus. Communication 1. Microbiological Characteristics, Molecular-Genetic and Mass-Spectrometric Identification of the Isolate. *Probl. Osobo Opasn. Infek. [Problems especially dangerous infections]*. 2013; 1: 60–65. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
- Kutyrev VV, Popova AYU, Yezhlova EB, et al. The case of human plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. *Vklad gosudarstv-uchastnikov sodruzhestva nezavisimyykh gosudarstv v obespecheniye sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v sovremennykh usloviyakh. Materialy XII Mezhhgosudarstvennoy nauchno-prakticheskoy konferentsii [Contribution of the member states of the commonwealth of independent states to the provision of sanitary and epidemiological welfare of the population in modern conditions. Proceedings of XII International scientific-practical conference]*. Saratov; 2014: 130–132. (In Russ.)
- Balakhonov SV, Popova AYU, Mishchenko AI, et al. A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootological Aspects. *Probl. Osobo Opasn. Infek. [Problems especially dangerous infections]*. 2016; 1: 55–60. (In Russ.) doi: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
- Feodorova VA, Sayarina LV, Corbel MJ, et al. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens. *Emerg Microb Infect*. 2014; 3: e86. doi: 10.1038/emi.2014.82.
- Zverev VV, Semenov BF, Khaitov RM. Vaccine and vaccinal prevention: national guide. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (In Russ.)
- Shchukovskaya TN, Smolkova EA, Shmelkova TP, et al. Induced Production of IFN- $\gamma$  and IL-4 as an Indicator of Functional Activity Human Th1 and Th2 Cells After Plague Vaccination. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2011; 6: 78–83. (In Russ.)
- Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, et al. Immunological Efficiency of Plague Vaccination in the Active Natural Focus. Report 1. Cytokine and immunoglobulin status. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2017; 16 (2): 45–48. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-45-48.
- Totolian AA. Modern approaches to diagnosis of immunopathological conditions. *Meditinskaya immunologiya [Medical Immunology]*. 1999; 1:75–108. (In Russ.)
- Nikulin BA. Evaluation and correction of immune status. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ.)
- Philipovskiy AV, Smiley ST. Vaccination with live *Yersinia pestis* primes CD4 and CD8 T cells that synergistically protect against lethal pulmonary *Y. pestis* infection. *Infection and Immunity*. 2007; 75(2):878–885.
- Khaitov RM, Pinegin BV, Yarinin AA. Immunology: atlas. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (In Russ.)
- Roit A, Brostoff J, Mail D. Immunology. Moscow: Mir; 2000. (In Russ.)
- Khaitov RM, Pinegin BV, Yarinin AA. Guide to Clinical Immunology. *Diagnosis of diseases of the immune system: a guide for doctors*. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (In Russ.)

## Об авторах

- Константин Михайлович Корытов** – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института (ORCID. 0000-0003-1137-6049)
- Валентина Владимировна Войткова** – к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института (ORCID. 0000-0002-0685-7625)
- Валентина Ивановна Дубровина** – д. б. н., заведующая лабораторией патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора. (ORCID. 0000-0001-8561-6207) (dubrovina-valya@mail.ru)
- Алексей Кимович Носков** – к. м. н., зав. отделом санитарной охраны территории и мониторинга ЧС Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора. (ORCID. 0000-0003-0550-2221)
- Сергей Владимирович Балахонов** – д. м. н. профессор, директор Иркутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора. (ORCID. 0000-0003-4201-5828)
- Александр Иванович Мищенко** – заместитель директора по эпидемиологической работе Алтайской противочумной станции Роспотребнадзора.
- Евгений Павлович Михайлов** – директор Алтайской противочумной станции.
- Леонид Васильевич Щучинов** – руководитель Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай.

Поступила: 22.08.2018. Принята к печати: 22.10.2018.

## About the Authors

- Konstantin M. Korytov** – junior scientific officer of department of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Rosпотребнадзор. (ORCID. 0000-0003-1137-6049)
- Valentina V. Voytkova** – Cand. Sci. (Med.), chief scientific officer of the department of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор. (ORCID. 0000-0002-0685-7625)
- Valentina I. Dubrovina** – Dr. Sci. (Biol.), senior scientific officer, head of the department of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор. (ORCID. 0000-0001-8561-6207) (dubrovina-valya@mail.ru)
- Alexey K. Noskov** – Cand. Sci. (Med.), head of department of sanitary protection of territory and monitoring of emergencies of Irkutsk Research Antiplague Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор. (ORCID. 0000-0003-0550-2221)
- Sergey V. Balakhonov** – Dr. Sci. (Med.), professor, director of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор. (ORCID. 0000-0003-4201-5828).
- Alexander I. Mishchenko** – deputy director for epidemiological work of Altai Antiplague Station of Rosпотребнадзор.
- Evgeny P. Mikhailov** – director of Altai Antiplague Station of Rosпотребнадзор.
- Leonid V. Shchuchinov** – head of Department of Rosпотребнадzor in the Republic of Altai.

Received: 22.08.2018. Accepted: 22.10.2018.