

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТИ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА К ВОЗБУДИТЕЛЮ БРУЦЕЛЛЕЗА

Пономаренко Д.Г., Костюченко М.В., Ракитина Е.Л.,
Логвиненко О.В., Хачатурова А.А., Лукашевич Д.Е., Курчева С.А.,
Русанова Д.В., Куличенко А.Н.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Резюме. Представлены результаты по изучению взаимосвязи антигенреактивности популяции Т-лимфоцитов в условиях *ex vivo* и напряженности протективного поствакцинального иммунитета к возбудителю бруцеллеза. Учитывая особенности иммунопатогенеза бруцеллеза и превалирующую роль адаптивного Т-клеточного иммунитета для защиты от возбудителя инфекции в качестве важнейшего аспекта проблем бруцеллеза рассматривается вопрос возможности прогностической оценки протективного иммунитета против бруцеллеза с использованием КАСТ-тестов. Очевидна необходимость корреляционного анализа *ex vivo* активности антиген-стимуляции Т-клеток и напряженности протективного иммунитета, сформировавшегося после вакцинации. Была установлена тесная прямая пропорциональная связь между количеством вводимых живых микробных клеток вакцинного штамма *Brucella abortus* 19-ВА и увеличением уровня *ex vivo* активации CD3-клеток. Выявлена тесная корреляция ($r = -0,841 \div -0,966$, $R^2 = 0,708 \div 0,969$) величины *ex vivo* антиген-индуцированной стимуляции CD3-лимфоцитов и уровня поствакцинальной иммунологической защиты против бруцеллезной инфекции. Показано, что у вакцинированных против бруцеллеза биомоделей при значении коэффициента стимуляции Т-лимфоцитов 50% и более (по интенсивности антиген-индуцированной *ex vivo* экспрессии CD25) обеспечивается 100%-ная защита от развития бруцеллезной инфекции после заражения *Brucella melitensis* в дозе 1×10^3 живых микробных клеток. Вместе с тем отмечено отсутствие тесной коррелятивной связи увеличения дозы вводимого биомоделям вакцинного штамма бруцелл и изменения среднего геометрического титра антител ($R^2 = 0,357 \div 0,404$), наличие слабо выраженной связи уровня агглютининов с иммунологической защитой биомоделей от развития бруцеллезной инфекции и показателями бактериальной обсемененности организма. По результатам исследования продемонстрирована возможность количественно оценивать формирование и протективную активность Т-клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза на основании анализа

Адрес для переписки:

Пономаренко Дмитрий Григорьевич
ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»
Роспотребнадзора
355035, Россия, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15.
Тел.: 8 (8652) 23-01-65 (доб. 119).
Тел./факс: 8 (8652) 26-03-12.
E-mail: ponomarenko.dg@gmail.com

Address for correspondence:

Dmitry G. Ponomarenko
Stavropol Anti-Plague Institute
13-15 Sovetskaya St
Stavropol
355035 Russian Federation
Phone: +7 (8652) 23-01-65 (acc. 119).
Phone/fax: +7 (8652) 26-03-12.
E-mail: ponomarenko.dg@gmail.com

Образец цитирования:

Д.Г. Пономаренко, М.В. Костюченко, Е.Л. Ракитина,
О.В. Логвиненко, А.А. Хачатурова, Д.Е. Лукашевич,
С.А. Курчева, Д.В. Русанова, А.Н. Куличенко
«Количественный анализ протективной активности
Т-клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза»
// Медицинская иммунология, 2024. Т. 26, № 1.
С. 211-220.
doi: 10.15789/1563-0625-QAO-2604
© Пономаренко Д.Г. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.G. Ponomarenko, M.V. Kostyuchenko, E.L. Rakitina,
O.V. Logvinenko, A.A. Khachaturova, D.E. Lukashevich,
S.A. Kurcheva, D.V. Rusanova, A.N. Kulichenko
“Quantitative analysis of protective T cell immunity against
brucellosis”, *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya*, 2024, Vol. 26, no. 1, pp. 211-220.
doi: 10.15789/1563-0625-QAO-2604
© Ponomarenko D.G. et al., 2023
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-QAO-2604

уровня антигенреактивности CD3-лимфоцитов *ex vivo*. Анализ корреляции состояния антигенреактивности Т-лимфоцитов и иммунологической устойчивости к бруцеллезной инфекции указал на высокую степень тесноты этих показателей. Ключевое влияние на активность протективного иммунитета оказывает уровень антигенреактивности Т-лимфоцитов, при этом к наиболее информативному показателю активности иммунологической защиты можно отнести коэффициент антигенной стимуляции популяции CD3⁺CD25⁺. Полученные данные и описанный методический подход можно использовать в качестве прогностического критерия при оценке защитного уровня клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза у вакцинированных или переболевших, а также с целью анализа эффективности специфической профилактики бруцеллеза и изучения иммуногенности, протективных свойств кандидатных препаратов противобруцеллезных вакцин.

Ключевые слова: бруцеллез, вакцинация, протективный иммунитет, антигенреактивность Т-лимфоцитов, коэффициент антигенной стимуляции, индекс инфицированности

QUANTITATIVE ANALYSIS OF PROTECTIVE T CELL IMMUNITY AGAINST BRUCELLOSIS

Ponomarenko D.G., Kostyuchenko M.V., Rakitina E.L., Logvinenko O.V., Khachaturova A.A., Lukashevich D.E., Kurcheva S.A., Rusanova D.V., Kulichenko A.N.

Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. We present the results of studies related to antigen reactivity of T lymphocyte population under *ex vivo* conditions and the intensity of protective post-vaccination immunity to causative agent of brucellosis. Due to peculiarities of immunopathogenesis in brucellosis infection and prevailing role of adaptive T cell immunity for protection against the causative agent of infection, a predictive evaluation of protective immunity against brucellosis using CAST-tests is considered the most important issue in the field. There is an obvious need for *ex vivo* analysis of correlations between the activity of antigen stimulation of T cells, and the intensity of protective immunity raised after vaccination. A close direct relationship was established between the number of live microbial cells of *Brucella abortus* 19BA vaccine strain administered, and increase in *ex vivo* CD3 cell activation. A close correlation ($r = -0.841 \div -0.966$, $R^2 = 0.708 \div 0.969$) was revealed between *ex vivo* values of antigen-induced stimulation of CD3 lymphocytes, and the levels of post-vaccination immunological protection against brucellosis infection. We have shown that, in biomodels vaccinated against brucellosis with a T lymphocyte stimulation coefficient of 50% or more (according to intensity of antigen-induced *ex vivo* CD25 expression), 100% protection against brucellosis infection was achieved after contamination with *Brucella melitensis* at a dose of 1×10^3 live microbial cells. At the same time, a lack of a close correlation was noted between an increased dose of *Brucella* vaccine strain administered to biomodels, and a change in geometric mean of antibody titer ($R^2 = 0.357 \div 0.404$), along with a weak relationship between the levels of agglutinins and immunological protection of biomodels from developing brucellosis infection and indices of *in vivo* bacterial contamination.

These results suggest an opportunity to quantify development and protective activity of T cell immunity to the causal agent of brucellosis based *ex vivo* levels of antigen reactivity of CD3 lymphocytes. A correlation analysis between the state of T cell antigen reactivity and immunological resistance to brucellosis infection indicated a high degree of closeness between these indices. The key influence on activity of protective immunity is exerted by the levels of antigen reactivity of T lymphocytes, whereas the quotient of antigenic stimulation in CD3⁺CD25⁺ population may be considered the most informative index of immune protective activity. The data obtained and the described methodology may be used as a predictive criterion in assessing protective level of cellular immunity to causative agent of brucellosis in vaccinated or recovering patients, testing the efficiency of specific prophylaxis in brucellosis and studying immunogenicity and protective properties of candidate vaccines against brucellosis.

Keywords: brucellosis, vaccination, protective immunity, antigen reactivity of T lymphocytes, antigenic stimulation coefficient, infection index

Введение

Бруцеллезная инфекция может рассматриваться как модель для изучения формирования и эффективности адаптивного иммунитета (естественного и индуцированного) в отношении внутриклеточных бактериальных инфекций, при которых врожденные факторы иммунологической защиты слабоэффективные и зачастую даже опосредуют сохранение («приживаемость») патогена в организме хозяина, приводя к хронизации инфекции [1].

Известно, что бруцеллы используют стратегию «скрытого» (stealthy strategy) проникновения в организм хозяина, ингибируют интенсивность иммуновоспалительных реакций, уклоняются от эффекторов врожденного иммунитета (нейтрофилы, макрофаги, дендритные клетки, НК-клетки, система комплемента и др.), в том числе за счет моделирования их защитных функций [9]. Помимо способности противостоять цитотоксическим (киллинговым) внутриклеточным механизмам фагоцитов, бруцеллы инициируют активный синтез клетками Treg (CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺) IL-10 – противовоспалительного цитокина, что обеспечивает подавление секреции IFN γ , тем самым ингибируя иммунную активацию профессиональных макрофагов и напряженность иммунологических реакций по воспалительному типу [16, 21].

Вместе с тем бруцеллы индуцируют цитокин-опосредованное нарушение процессов трансмиссии от врожденного иммунитета к приобретенному, что в итоге способствует гипоергии Th1-иммунного ответа (подавление синтеза IL-2, IFN γ , IL-12 и др., экспрессия антигенов МНС-II и костимуляция макрофагов) и формированию достаточно относительного и непродолжительного постинфекционного протективного иммунитета. Доказано, что PgpA (пропил-рацемеза) *Brucella* spp. способствует активной пролиферации В-лимфоцитов (активация Th2-иммунного ответа), синтезу моноцитами и регуляторными Т-клетками IL-10, подавлению продукции IFN γ , TNF α и усилению синтеза антипролиферативного фактора TGF- β 1 клетками ММС [14, 19].

Многими исследователями было показано, что протективный иммунитет против возбудителя бруцеллеза обеспечивается главным образом специфической активностью иммунного ответа Th1-типа (с эффективной антигенпрезентацией фагоцитами, экспрессией провоспалительных цитокинов) и эффекторной клеточно-опосредованной цитотоксичностью за счет профессиональных макрофагов и лимфоцитов CD3⁺CD8⁺ [13, 18, 20].

По результатам ранее проведенных нами исследований впервые была показана возможность и перспектива применения клеточного антиген-специфического теста (КАСТ-теста) для диагно-

стики бруцеллеза, анализа динамики антигенреактивных CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺ лимфоцитов после иммунизации против бруцеллеза, а также оценки фактической привитости людей против бруцеллезной инфекции в разные периоды после вакцинации [3, 4, 12].

Учитывая особенности иммунопатогенеза бруцеллеза и превалирующую роль адаптивного Т-клеточного иммунитета для защиты от возбудителя инфекции в качестве важнейшего аспекта проблем бруцеллеза рассматривается вопрос определения диагностически информативных критериев для оценки наличия и активности протективного иммунитета, опосредованного Т-клетками. Вместе с тем требует решения вопрос возможности прогностической оценки протективного иммунитета против бруцеллеза с использованием КАСТ-тестов. Очевидна необходимость корреляционного анализа *ex vivo* активности антиген-стимуляции Т-клеток и напряженности протективного иммунитета, сформировавшегося после вакцинации.

Цель – провести анализ особенностей формирования поствакцинального иммунитета к возбудителю бруцеллеза, в зависимости от иммунизирующей дозы, и оценку состояния протективного иммунитета на основе исследования антигенреактивности Т-лимфоцитов *ex vivo*.

Материалы и методы

Для моделирования инфекции и оценки специфического иммунитета использовали 288 SHK мышей самцов весом 20 \pm 2 г. Биомодели были рандомизированы на 4 группы: мыши из групп № 1, № 2 и № 3 были привиты вакцинным штаммом *Brucella* (*B.*) *abortus* 19ВА («Микроген», Россия). Животным опытных групп вводили бактериальные суспензии в дозировках 10³, 10⁵ и 10⁸ живых микробных клеток (ж. м. к.) в 500 мкл 0,9%-ного раствора NaCl. Иммунизировали мышей подкожно в область паха. В качестве контроля использовали особей 4-й группы, им инъецировали 500 мкл стерильного физраствора. До введения вакцинного штамма, а также через 7, 14, 30, 60 и 90 суток после вакцинации у 10 особей из каждой группы брали кровь для иммунологических исследований. Уровень антигенреактивных Т-лимфоцитов определяли с применением КАСТ, анализируя на проточном цитометре (FACS Calibur, Becton Dickinson, США) фоновое количество CD3⁺CD25⁺, CD3⁺МНС-II⁺ (BD Pharmingen, США) и численность этих популяций после инкубации с бруцеллезным антигеном. Учет реакции антигенной активации популяции CD3⁺ лимфоцитов осуществляли по интенсивности экспрессии рецепторов CD25 и МНС-II с последующим расчетом коэффициента антигенной стимуляции [6].

Для *ex vivo* стимуляции лимфоцитов применяли антигенный белково-полисахаридный комплекс из штамма *B. abortus* 19 с концентрацией белка $5,0 \pm 0,2$ мг/мл. Получение, контроль бруцеллезного антигена и проведение цитометрических исследований осуществляли в соответствии с МР 3.1.0207-20 [6]. Вместе с тем во все сроки исследования у биомоделей определяли специфические антитела в пробирочной реакции агглютинации с последующим расчетом средних значений геометрического титра антител (СГТ), путем перевода абсолютных значений титров в логарифмы с основанием 2 (\log_2). Для выявления специфических антител к бруцеллам применяли «Диагностикум бруцеллезный жидкий для реакции агглютинации, суспензия для диагностических целей» (Ставропольский противочумный институт, Россия).

На 90-й день после иммунизации, вакцинированных (по 12 жив. от каждой группы) и контрольных биомоделей заражали подкожно в паховую область двухсуточной вирулентной культурой *Brucella melitensis* 16-М в дозе 1×10^3 живых микробных клеток в 0,5 мл стерильного изотонического раствора. На 21-е сутки после инфицирования производили убой и бактериологическое исследование биоматериала от животных. Исследовали паховые, аксиллярные, парааортальные лимфатические узлы, селезенку и печень. Материал засеивали в пробирки с Бруцеллагаром и Бруцелла-бульоном (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Посевы инкубировали 14 суток в термостате при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Просмотр посевов в пробирках с агаром и бульоном проводили каждые 2 дня, из помутневших бульонов делали высевы в пробирки со скошенным агаром (посевы из бульона культивировали не менее 14 суток).

Индекс инфицированности (ИИ) организма биомоделей после заражения патогенным штаммом бруцелл вычисляли по формуле:

$$x = \frac{a \cdot 100}{b \cdot c},$$

где x – индекс инфицированности (%), a – число выделенных культур, b – количество животных в группе, c – количество объектов (органы, ткани), отобранных от одной биомодели. Вместе с тем рассчитывали индекс интенсивности обсеменения внутренних органов (ИИОВО), который определяли путем деления суммы баллов, характеризующих интенсивность роста бруцелл, на число исследуемых объектов, умноженное на 4. Интенсивность роста культур бруцелл оценивали по 4-балльной системе [2, 10].

Работа с культурами бруцелл и биоматериалом от инфицированных ими биомоделей, иммунологические, биологические и бактериологические исследования были проведены в соответствии с СанПиН 3.3686-21 [11] и МУК 3.1.7.3402-16 [7], МУ 3.3.2.2124-06 [8].

Для статистической обработки полученных результатов применяли аналитический пакет Microsoft Excel 2010. Рассчитывали среднюю (x_{cp}), интервал ($\min \div \max$), медиану (Me) и показатель корреляции (r) по методу Пирсона. Связь между переменными учитывали по шкале Е.П. Голубкова. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Вместе с тем проводили регрессионный анализ влияния уровня антигенреактивности $CD3^+CD25^+$, $CD3^+MHC-II^+$ и средних значений геометрического титра антител на индексы инфицированности и интенсивности обсеменения внутренних органов организма биомоделей из групп сравнения, после заражения патогенным штаммом бруцелл.

Результаты и обсуждение

При обследовании экспериментальных животных перед вакцинацией были выявлены в целом сходные значения спонтанной (фоновой) и индуцированной бруцеллезным антигеном экспрессии $CD3$ -лимфоцитами рецепторов $CD25$ и $MHC-II$. Что указывает на отсутствие неспецифического активирующего действия бруцеллезного антигена на лимфоциты в условиях *in vitro*.

Интерлейкин-2 и его рецептор (IL-2R) относят к основным факторам роста, который участвует в регуляции клональной экспансии антиген-активированных Т-клеток. При антигенной индукции на мембране Т-клеток в составе гетеродимерного комплекса экспрессируется α -субъединица ($CD25$, рецептора IL-2ra). Взаимодействие IL-2 с TCR стимулирует рекрутинг интактных Т-клеток для пролиферации. Интенсивная экспрессия Т-лимфоцитами α -цепи высокоаффинного рецептора IL-2 отражает наиболее раннюю антигенную активацию Т-клеток [5, 15].

Анализ динамики количества $CD25$ -позитивных Т-лимфоцитов у биомоделей 1-й группы (доза вакцины 1×10^3 ж.м.к.) показал, что в процессе развития иммунологической реакции после вакцинации наблюдается увеличение пула Т-клеток, экспрессирующих рецепторы к IL-2 в сроки до 30 суток с последующим их снижением к 90-м суткам до уровня контрольных животных. Так, на 7-е сутки после иммунизации медианные значения антигенреактивности $CD3^+CD25^+$ лимфоцитов, рассчитанные по коэффициенту стимуляции, составили 17,05% в среднем, в этот срок антигениндуцированная экспрессия Т-клеткам антигена IL-2ra составила $16,66 \pm 0,68\%$. На 14-е, 30-е сутки после иммунизации медиана значений коэффициента стимуляции антигенреактивных $CD3^+CD25^+$ лимфоцитов незначительно увеличилась до 22,46% ($21,69 \pm 1,15\%$) и 29,43% ($29,86 \pm 1,47\%$) соответственно. На 60-е и 90-е сутки после иммунизации *Brucella abortus* 19-ВА в дозе 1×10^3 ж.м.к. отмечается снижение

КС Т-клеток: Ме 18,05% (18,24 ± 1,49%) и 12,50% (16,63 ± 2,82%) соответственно.

У животных 2-й группы (доза вакцины 1×10^5 ж. м. к.) на 7-е сутки после иммунизации уровень КС Т-лимфоцитов по экспрессии CD25 увеличился более чем в 3 раза, до 34,6 ± 2,23% (Ме = 33,9%) в сравнении с данными до вакцинации 10,95 ± 1,13% (Ме = 10,34%). На 14-е сутки количество антигенреактивных CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов увеличилось в среднем до 40,28 ± 2,49% (Ме = 40,15%) с последующим постепенным снижением на 30-е, 60-е и 90-е сутки: 34,52 ± 1,72% (Ме = 32,44%), 24,50 ± 1,44% (Ме = 24,75%) и 25,92 ± 1,84% (Ме = 24,73%).

Наиболее показательна динамика *ex vivo* реакции Т-лимфоцитов на антигенную стимуляцию в 3-й опытной группе мышей, иммунизированных наиболее высокой дозой *Brucella abortus* 19-ВА (1×10^8 ж. м. к.). У биомоделей 3-й группы во все сроки наблюдения отмечались самые высокие значения антигенной активации популяции Т-лимфоцитов из всех экспериментальных групп. На 7-е сутки после введения вакцинного штамма регистрировалось более чем пятикратное увеличение коэффициента антигенной стимуляции CD3⁺CD25⁺ – 51,76 ± 2,32% (Ме = 52,04%). На 14-е сутки медианные значения КС пула CD3⁺CD25⁺ еще незначительно увеличились до 57,86 ± 2,30% (Ме = 56,80%). В сроки на 30-е, 60-е и 90-е сутки после иммунизации КС при антигенной активации Т-лимфоцитов составил в среднем 55,44 ± 2,06% (Ме = 54,74%), 49,94 ± 1,33% (Ме = 48,48) и 50,84 ± 1,59% (Ме = 51,63%) соответственно (рис. 1).

Интерес представляют результаты изучения динамики фоновой и индуцированной антигеном экспрессии Т-лимфоцитами молекул II класса главного комплекса гистосовместимости

(МНС). Молекулы МНС-II участвуют в регуляции распознавания Т-лимфоцитами чужеродных антигенов (активация TCR) и контроле прайминга Т-клеток. Активированные CD4⁺МНС-II⁺ костимулируют синтез Th1-цитокинов и внеклеточную гибель патогенов. Вместе с тем основная функция МНС-II заключается в представлении процессированных экзогенных антигенов CD4⁺Т-лимфоцитам. Молекулы МНС класса II имеют решающее значение для инициации антиген-специфического иммунного ответа. Активная экспрессия Т-лимфоцитами молекулы МНС-II может в полной мере отражать «зрелый» и длительный функциональный аффинитет активированных Т-клеток [5, 17].

В процессе развития поствакцинального иммунитета у биомоделей после иммунизации вакцинным штаммом бруцелл отмечалось постепенное прогрессирующее увеличение количества антигенреактивных CD3⁺МНС-II⁺ клеток, при этом во всех опытных группах наблюдалась схожая динамика. У животных 1-й группы на 7-е сутки после иммунизации медианные значения антигенреактивности CD3⁺МНС-II⁺ лимфоцитов, рассчитанные по коэффициенту стимуляции, составили 12,28% (12,35 ± 0,80%) и практически не отличались от аналогичных значений в контрольной группе Ме = 13,37 (13,26 ± 0,82%). В последующие сроки наблюдения с 14-х до 60-е сутки отмечается увеличение интенсивности антигенной активации CD3⁺МНС-II⁺ лимфоцитов – Ме КС составили 17,52% (18,17 ± 1,60%), 39,36% (42,04 ± 2,35%) и 45,02% (44,89 ± 1,62%) с последующим снижением к 90-м суткам до 35,07% (35,01 ± 1,27%).

У животных опытной группы № 2 (10^5 ж. м. к.) значения *ex vivo* антигенной активации практически не отличались от таковых у биомоделей группы

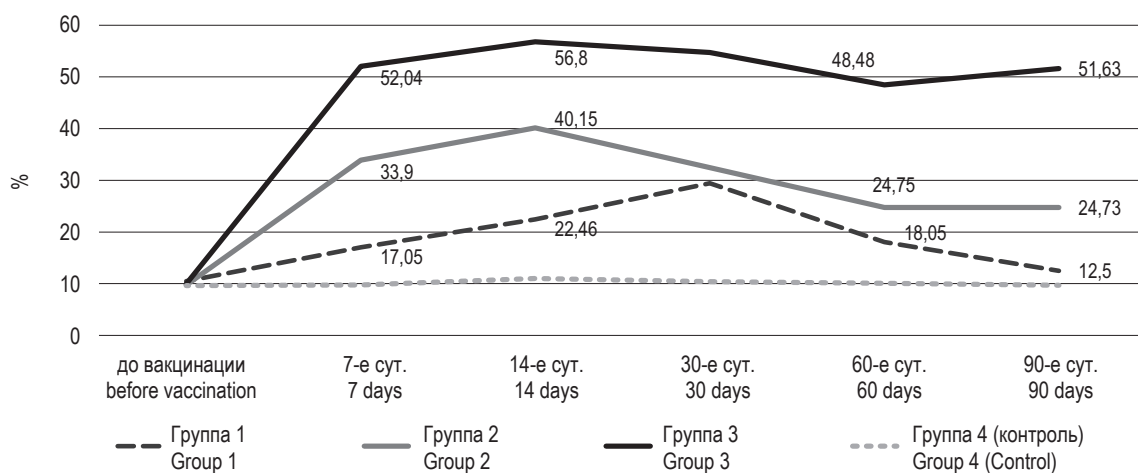


Рисунок 1. Динамика значений коэффициента антигенной стимуляции CD3⁺CD25⁺ лимфоцитов у биомоделей из групп сравнения

Figure 1. Dynamics of values of antigenic stimulation coefficient CD3⁺CD25⁺ lymphocytes in biomodels from comparison groups

№ 1. Медианное количество антигенреактивного пула CD3⁺МНС-II⁺ на 7-е сутки после иммунизации составило 14,31% (14,07±0,76%), 14-е сутки – 21,98% (21,87±1,92%), 30-е сутки – 42,12% (42,52±1,77%), 60-е сутки – 46,93% (47,03±2,05%), 90-е сутки – 42,74% (42,22±2,21%).

Статистически значимо высокие значения интенсивности антиген-индуцированной экспрессии Т-лимфоцитами молекул II класса главного комплекса гистосовместимости регистрировали в 3-й группе мышей, иммунизированных самой высокой дозой вакцинного штамма – 10⁸ ж.м.к. *B. abortus* 19ВА. На 7-е сутки после иммунизации КС составил в среднем 19,61±1,22% (Ме = 18,30%), 14-е сутки – 27,21±2,96% (Ме = 25,74%), 30-е сутки – 53,88±2,48% (Ме = 56,77%), 60-е сутки – 49,54±1,37% (Ме = 50,00%), 90 сут. – 42,19±1,59% (Ме = 43,18%) (рис. 2).

По результатам цитометрических исследований было установлено, что вне зависимости от срока наблюдения наиболее интенсивная активация пулов CD3⁺CD25⁺ и CD3⁺МНС-II⁺ клеток отмечалась в группе животных, иммунизированных наиболее высокой дозой *Brucella abortus* 19ВА (1 × 10⁸ ж. м. к.). Анализ тесноты связи динамики уровня интенсивности экспрессии рецепторов активации и увеличения количества вводимых ж.м.к. вакцинного штамма бруцелл указал на наличие прямой прямо пропорциональной зависимости. Высокой тесны связь установлена с динамикой антигенреактивного пула CD3⁺CD25⁺. Так, на 7-е сут. коэффициент линейной корреляции составил $r = 0,844$, 14-е сут. – $r = 0,803$, 30-е сут. – $r = 0,843$, 60-е сут. – $r = 0,932$ и 90-е сут. – $r = 0,940$. Значения корреляционного соотношения иммунизирующей дозы (ж.м.к. *Brucella abortus* 19-ВА) и интенсивности антигенреактивности CD3⁺МНС-II⁺ имели тенденцию к сниже-

нию в динамике наблюдения и составили на 7-е сут. $r = 0,928$, 14-е сут. $r = 0,666$, 30-е сут. $r = 0,692$, 60-е сут. $r = 0,419$ и 90-е сут. $r = 0,473$.

Результаты анализа сероконверсии у биомоделей в динамике на 7-й, 14-й, 30-й, 60-й и 90-й день после вакцинации во всех опытных группах были выявлены в целом сходные значения СГТ противобруцеллезных антител (log₂), особенно во 2-й и 3-й группах биомоделей. Наивысший уровень (пик) титров антител был выявлен на 14-е сутки после вакцинации с последующим постепенным снижением (табл. 1). Анализ наличия и силы корреляции увеличения дозы вакцины и изменения СГТ указал на отсутствие выраженной коррелятивной связи. На 7-е сутки после иммунизации в группах сравнения выявлено очень слабое соотношение ($r = 0,404$), а в последующие сроки наблюдения корреляция отсутствовала (14-е сут. – 0,362, 30-е сут. – 0,357, 60-е сут. – 0,358 и 90-е сут. – 0,369).

В результате проведения биологических и бактериологических исследований было установлено, что после заражения мышей референтным патогенным штаммом *B. melitensis* 16М (1 × 10³ ж. м. к.) у 100% особей контрольной группы регистрировалось развитие бруцеллезной инфекции, из которых 25% с регионарной, 75% с генерализованной инфекцией, ИИ составил 73,3%, ИИОВО – 0,521 ед. Среди животных 1-й группы у 9 особей (75%) был исследованиями подтвержден бруцеллез (55% – регионарная, 45% – генерализованная инфекция), ИИ составил 31,7%, ИИОВО – 0,204. В результате инфицирования мышей из 2-й группы только у 41,7% отмечалось развитие бруцеллеза, из которых у 80% – регионарная, 20% – генерализованная инфекция), ИИ составил 21,7%, ИИОВО – 0,108. У животных 3-й группы не регистрировалось развитие бруцел-

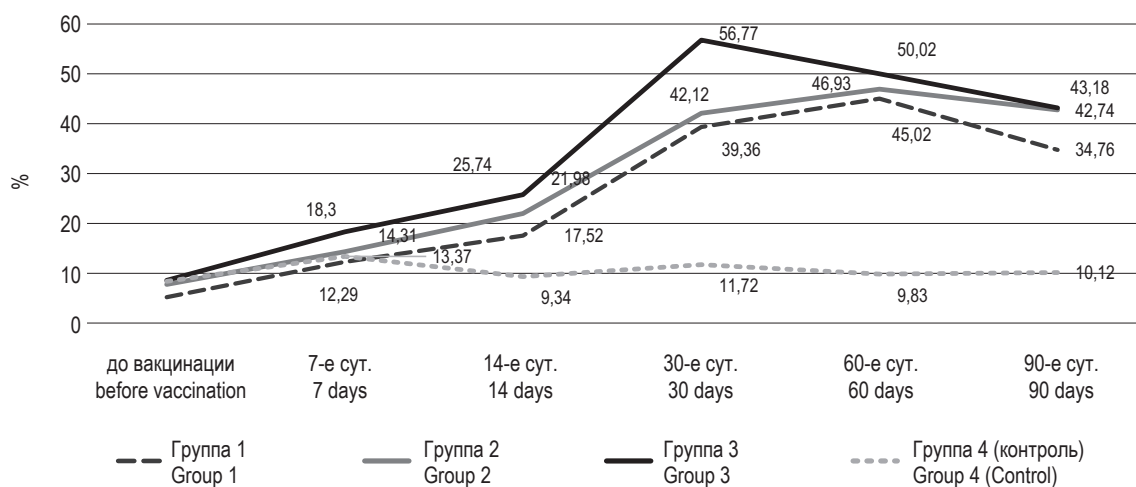


Рисунок 2. Динамика значений коэффициента антигенной стимуляции CD3⁺МНС-II⁺ лимфоцитов у биомоделей из групп сравнения

Figure 2. Dynamics of values of antigenic stimulation coefficient CD3⁺МНС-II⁺ lymphocytes in biomodels from comparison groups

ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ СРЕДНЕГО ГЕОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРА ПРОТИВОБРУЦЕЛЛЕЗНЫХ АНТИТЕЛ У БИОМОДЕЛЕЙ ИЗ ГРУПП СРАВНЕНИЯ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА

TABLE 1. VALUES OF MEAN GEOMETRIC TITER ANTI-BRUCELLOSIS ANTIBODIES IN BIOMODELS FROM COMPARISON GROUPS IN DYNAMICS OF POST-VACCINATION IMMUNITY DEVELOPMENT

Группы Groups	до вакцинации before vaccination	СГТ противобруцеллезных антител (\log_2) после иммунизации различными дозами <i>B. abortus</i> 19-BA MGT anti-brucellosis antibodies (\log_2) after immunization with various doses <i>B. abortus</i> 19-BA				
		через 7-е сут. after 7 days	через 14-е сут. after 14 days	через 30-е сут. after 30 days	через 60-е сут. after 60 days	через 90-е сут. after 90 days
№ 1 (1×10^3 ж. м. к.) No. 1 (1×10^3 l. m. c.)	0	2,422	4,422	3,622	3,522	3,151
№ 2 (1×10^5 ж. м. к.) No. 2 (1×10^5 l. m. c.)	0	2,422	4,722	3,822	3,722	3,422
№ 3 (1×10^8 ж. м. к.) No. 3 (1×10^8 l. m. c.)	0	2,622	4,722	3,822	3,722	3,422

ТАБЛИЦА 2. СГТ АНТИТЕЛ, КОЛИЧЕСТВО АНТИГЕНРЕАКТИВНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ И ПОКАЗАТЕЛИ ИНФИЦИРОВАННОСТИ БРУЦЕЛЛАМИ У БИОМОДЕЛЕЙ ИЗ ГРУПП СРАВНЕНИЯ

TABLE 2. MGT ANTIBODIES, NUMBER OF ANTIGEN-REACTIVE T LYMPHOCYTES AND INDICATORS BRUCELLA INFECTION IN BIOMODELS FROM COMPARISON GROUPS

Группы Groups	СГТ антител и медианные значения КС Т-лимфоцитов у биомоделей на 90-е сутки после иммунизации различными дозами <i>B. abortus</i> 19-BA MGT antibodies and median values CS T lymphocytes in biomodels on 90 th day after immunization with various doses <i>B. abortus</i> 19-BA			Результаты бактериологических исследований после инфицирования <i>B. melitensis</i> 16M Results of bacteriological studies after infection <i>B. melitensis</i> 16M		
	СГТ (\log_2) MGT (\log_2)	CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	CD3 ⁺ МНС-II ⁺ , %	Количество заразившихся животных, % Number of infected animals, %	ИИ, % Infection index, %	ИИОВО, ед. Index of intensity insemination internal organs, units
Контроль Control	0	9,69	10,12	100	73,3	0,521
№ 1 (1×10^3 ж. м. к.) No. 1 (1×10^3 l. m. c.)	3,151	12,5	34,76	75	31,7	0,204
№ 2 (1×10^5 ж. м. к.) No. 2 (1×10^5 l. m. c.)	3,422	24,73	41,36	41,7	21,7	0,108
№ 3 (1×10^8 ж. м. к.) No. 3 (1×10^8 l. m. c.)	3,422	51,63	43,18	0	0	0

лезной инфекции после заражения патогенным штаммом бруцелл (табл. 2).

Анализ зависимости изменения доли антиген-реактивного пула CD3⁺CD25⁺ клеток, количества животных, заразившихся бруцеллезом, а также количественных данных ИИ, ИИОВО у биомоделей из групп сравнения указал на высокую степень корреляции исследуемых показателей.

Исследования показали наличие обратно пропорциональной совместной изменчивости – увеличения доли пула антигенреактивных Т-клеток и снижения количества биомоделей, заразившихся бруцеллезом ($r = -0,966$), ИИ ($r = -0,837$), ИИОВО ($r = -0,795$). Аналогичная тенденция выявлена и при анализе связи повышения доли антигенреактивных CD3⁺МНС-II⁺ клеток и сни-

жения количества животных, заболевших бруцеллезом после инфицирования патогенным штаммом бруцелл ($r = -0,841$) ИИ ($r = -0,965$), ИИОВО ($r = -0,985$). Вместе с тем отмечено наличие тесной обратной связи динамики СГТ противобруцеллезных антител и количества животных, заразившихся бруцеллезом ($r = -0,748$), а также значений у этих биомоделей ИИ ($r = -0,924$), ИИОВО ($r = -0,949$).

Регрессионный анализ зависимости интенсивности антигенспецифической *ex vivo* активации Т-клеток с уровнем инфицированности и интенсивности обсеменения внутренних органов организма биомоделей из групп сравнения после заражения патогенным штаммом бруцелл показал высокую степень влияния состояния антигенреактивности у животных CD3⁺CD25⁺ ($R_2 = 0,932, 0,701, 0,632$) и CD3⁺МНС-II⁺ ($R_2 = 0,708, 0,931$ и $0,969$) на протективные свойства поствакцинального иммунитета. Вместе с тем отмечено наличие менее выраженной связи уровня агглютининов с иммунологической защитой против возбудителя бруцеллеза. Степень влияния (связи) СГТ антител на устойчивость животных к заражению ($R_2 = 0,560$), ИИ составила $R_2 = 0,675$, ИИОВО – $R_2 = 0,663$.

Заключение

По результатам исследований была установлена тесная (сильная) прямая пропорциональная связь между количеством вводимых ж.м.к. вакцинного штамма *Brucella abortus* 19ВА и увеличением уровня *ex vivo* активации CD3-клеток (интенсивности антиген-стимулированной экспрессии рецептора к IL-2). У животных экспериментальной группы № 3, которых иммунизировали наибольшей дозой вакцины (1×10^8 ж.м.к.), была выявлена статистически значимо самая высокая численность пула антигенреактивных CD3⁺CD25⁺, которая сохранялась во все сроки наблюдения – до 90 суток после иммунизации.

Вместе с тем была выявлена тесная корреляция ($r = -0,841 \div -0,966$, $R_2 = 0,708 \div 0,969$) величины *ex vivo* антиген-индуцированной стимуляции CD3-лимфоцитов и уровня иммунологической защиты после иммунизации против бруцеллеза, обеспечивающего защиту от заражения наиболее патогенным для человека и лабораторных животных видом бруцелл – *Brucella melitensis*.

Список литературы / References

1. Бруцеллез. Современное состояние проблемы (издание второе, дополненное) / Под ред. Г.Г. Онищенко, А.Н. Куличенко. Н. Новгород: Союзполиграф, Кириллица, 2021. 356 с. [Brucellosis. The current state of the problem(second edition, supplemented) / Ed. G.G. Onishchenko, A.N. Kulichenko]. Nizhniy Novgorod: Souzpoligaf, Kirillitsa, 2021. 356 p.
2. Кайтмазова Е.И., Островская Н.Н. Сравнительная вирулентность разных биотипов бруцелл вида *melitensis, abortus, suis* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1967. № 2. С. 66-69. [Kaitmazova E.I., Ostrovskaya N.N. Comparative virulence of different biotypes of *Brucella* species *melitensis, abortus, suis*. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1967, no. 2, pp. 66-69. (In Russ.)]

Выявлено, что у вакцинированных против бруцеллеза биомоделей при значении коэффициента стимуляции Т-лимфоцитов 50% и более (по интенсивности антиген-индуцированной *ex vivo* экспрессии CD25⁺) обеспечивается 100%-ная защита от развития бруцеллезной инфекции после заражения *Brucella melitensis* в дозе 1×10^3 живых микробных клеток.

Показано отсутствие тесной коррелятивной связи увеличения дозы вводимого биомоделем вакцинного штамма бруцелл и изменения среднего геометрического титра во все сроки наблюдения ($R_2 = 0,357 \div 0,404$). Вместе с тем отмечено наличие слабо выраженной связи уровня агглютининов с иммунологической защитой биомоделей от развития бруцеллезной инфекции. Установлена умеренная степень влияния титра антител на индексы инфицированности и обсеменения внутренних органов организма биомоделей после заражения патогенным штаммом бруцелл ($R_2 = 0,663 \div 0,675$).

Таким образом, по результатам исследования продемонстрирована возможность количественно оценивать формирование и протективную активность Т-клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза на основании анализа уровня антигенреактивности CD3-лимфоцитов *ex vivo*. Анализ корреляции состояния антигенреактивности Т-лимфоцитов и иммунологической устойчивости к бруцеллезной инфекции указал на высокую степень тесноты этих переменных. Ключевое влияние на активность протективного иммунитета оказывает уровень антигенреактивности Т-лимфоцитов, при этом к наиболее информативному показателю активности иммунологической защиты можно отнести коэффициент антигенной стимуляции CD3⁺CD25⁺, значения которого 51% и более указывают на наличие иммунологической защиты против бруцеллезной инфекции.

Полученные данные и описанный методический подход (КАСТ) можно использовать в качестве прогностического критерия при оценке защитного уровня клеточного иммунитета к возбудителю бруцеллеза у вакцинированных или переболевших, а также с целью анализа эффективности специфической профилактики бруцеллеза, в т. ч. на ранних сроках (7-14-е сут.) после прививки и изучения иммуногенности, протективных свойств кандидатных препаратов противобруцеллезных вакцин.

3. Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Логвиненко О.В., Санникова И.В., Дейнека Д.А., Голубь О.Г. Перспектива оценки антигенреактивности лимфоцитов *in vitro* для диагностики острого бруцеллеза. *Инфекция и иммунитет*. 2017. Т. 7, № 1. С. 91-96. [Kostyuchenko M.V., Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Logvinenko O.V., Sannikova I.V., Deineka D.A., Golub O.G. Perspective of *in vitro* lymphocytes antigenicity evaluation for the diagnostics of acute brucellosis. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2017. Vol. 7, no. 1, pp. 91-96. (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-2017-1-91-96.
4. Костюченко М.В., Ракитина Е.Л., Пономаренко Д.Г., Логвиненко О.В., Курчева С.А., Бердникова Т.В., Русанова Д.В., Куличенко А.Н. 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. [Kostyuchenko M.V., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Logvinenko O.V., Kurcheva S.A., Berdnikova T.V., Rusanova D.V., Kulichenko A.N. Studying development of post-vaccinal cellular immunity against brucellosis by means of lymphocyte *in vitro* tests using an experimental antigenic complex. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 3, pp. 547-554. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-3-547-554.
5. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В., Кайгородова Е.В., Гончаров А.Г. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов // *Медицинская иммунология*, 2014. Т. 16, № 1. С. 7-26. [Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V., Kaigorodova E.V., Goncharov A.G. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 1, pp. 7-26. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-1-7-26.
6. Методические рекомендации МР 3.1.0207-20 «Цитометрический анализ антигенреактивности лейкоцитов *in vitro* для диагностики и оценки эффективности иммунопрофилактики бруцеллеза у людей». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/402622756/> (Дата обращения: 01.08.2022). [Methodological recommendations MR 3.1.0207-20 "Cytometric analysis of leukocyte antigen reactivity *in vitro* for the diagnosis and evaluation of the effectiveness of immunoprophylaxis of brucellosis in humans". [Electronic resource]. Access mode: <https://base.garant.ru/402622756/>. (Date of the application: August 1, 2022).
7. Методические указания МУК 3.1.7.3402-16 «Эпидемиологический надзор и лабораторная диагностика бруцеллеза». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456083631>. (Дата обращения: 02.08.2022). [Methodological guidelines of MUC 3.1.7.3402-16 "Epidemiological surveillance and laboratory diagnostics of brucellosis". [Electronic resource]. Access mode: <https://docs.cntd.ru/document/456083631>. (Date of the application: August 2, 2022).
8. Методические указания МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200047517>. (Дата обращения: 02.08.2022). [Methodological guidelines of MU 3.3.2.2124-06 "Control of diagnostic nutrient media by biological indicators for pathogens of plague, cholera, anthrax, tularemia". [Electronic resource]. Access mode: <https://docs.cntd.ru/document/1200047517>. (Date of the application: August 2, 2022).
9. Пономаренко Д.Г., Саркисян Н.С., Куличенко А.Н. Патогенез бруцеллеза: анализ иммунопатологической концепции // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*, 2020. Т. 9, № 3. С. 96-105. [Ponomarenko D.G., Sarkisyan N.S., Kulichenko A.N. Pathogenesis of brucellosis: analysis of the immunopathological concept. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2020, Vol. 9, no. 3, pp. 96-105. (In Russ.)]
10. Ременцова М.М., Грушина Т.А. Влияние гидрокортизона и методов заражения на высеваемость бруцелл из организма белых мышей // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*, 1978. № 1. С. 61-65. [Rementsova M.M., Grushina T.A. Effect of hydrocortisone and methods of infection on the isolation of *Brucella* from the body of albino mice. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1978, no. 1, pp. 61-65. (In Russ.)]
11. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/573660140>. (Дата обращения: 01.08.2022). [SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases". [Electronic resource]. Access mode: <https://docs.cntd.ru/document/573660140>. (Date of the application: August 1, 2022).
12. Способ оценки фактической привитости людей против бруцеллеза на ранних сроках после вакцинации / Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Логвиненко О.В., Курчева С.А., Жарникова И.В., Русанова Д.В., Бердникова Т.В., Хачатурова А.А., Куличенко А.Н. Патент на изобретение RU 2714136 C1, 12.02.2020. Заявка № 2019109438 от 29.03.2019. [Method for assessing actual vaccination of people against brucellosis in the early stages after vaccination / Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Logvinenko O.V., Kurcheva S.A., Zharnikova I.V., Rusanova D.V., Berdnikova T.V., Khachaturova A.A., Kulichenko A.N. Patent for invention RU 2714136 C1, 02/12/2020. Application no. 2019109438 dated 29.03.2019].
13. Avila-Calderón E.D., Flores-Romo L., Sharon W., Donis-Maturano L., Becerril-García M.A., Arreola M., Reynoso B.A., Güemes F.S., Contreras-Rodríguez A. Dendritic cells and *Brucella* spp. interaction: the sentinel host and the stealthy pathogen. *Folia Microbiol. (Praha)*, 2020, Vol. 65, no. 1, pp. 1-16.

14. Fernandes D.M., Jiang X., Jung J.H., Baldwin C.L. Comparison of T cell cytokines in resistant and susceptible mice infected with virulent *Brucella abortus* strain 2308. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 1996, Vol. 16, no. 3-4, pp. 193-203.
15. Gerber W.A. Focus on chronic variable immunodeficiency for primary care practitioners, the gatekeepers to optimal health outcomes for primary immunodeficiency syndromes. *Curr. Pediatr. Rep.*, 2019, Vol. 7, pp. 130-144.
16. Hare S., Bayliss R., Baron C., Waksman G. A large domain swap in the VirB11 ATPase of *Brucella suis* leaves the hexameric assembly intact. *J. Mol. Biol.*, 2006, Vol. 360, no. 1, pp. 56-66.
17. Holling T., Schooten E., van den Elsen P. Function and regulation of MHC Class II Molecules in T-Lymphocytes: Of Mice and Men. *Hum. Immunol.*, 2004, Vol. 65, no. 4, pp. 282-290.
18. Jiao H., Zhou Z., Li B., Xiao Y., Li M., Zeng H., Guo X., GuG. The mechanism of facultative intracellular parasitism of brucella. *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 22, no. 7, 3673. doi: 10.3390/ijms22073673.
19. López-Santiago R., Sánchez-Argáez A.B., de Alba-Núñez L.G., Baltierra-Urbe S.L., Moreno-Lafont M.C. Immune response to mucosal brucella infection. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 1759. doi: 10.3389/fimmu.2019.01759.
20. Vitry M.A., de Trez C., Goriely S., Dumoutier L., Akira S., Ryffel B., Carlier Y., Letesson J.J., Muraille E. Crucial role of gamma interferon-producing CD4⁺ Th1 cells but dispensable function of CD8⁺ T cell, B cell, Th2, and Th17 responses in the control of *Brucella melitensis* infection in mice. *Infect. Immun.*, 2012, Vol. 80, no. 12, pp. 4271-4280.
21. Xavier M.N., Winter M.G., Spees A.M., Nguyen K., Atluri V.L., Silva T.M., Bäumlner A.J., Müller W., Santos R.L., Tsolis R.M. CD4⁺ T cell-derived IL-10 promotes *Brucella abortus* persistence via modulation of macrophage function. *PLoS Pathog.*, 2013, Vol. 9, no. 6, e1003454. doi: 10.1371/journal.ppat.1003454.

Авторы:

Пономаренко Д.Г. — к.б.н., заведующий лабораторией бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Костюченко М.В. — биолог сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Ракитина Е.Л. — к.м.н., врач КЛД сектора иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Логвиненко О.В. — к.б.н., заведующая сектором иммунологии и патоморфологии особо опасных инфекционных заболеваний ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Хачатурова А.А. — биолог лаборатории бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Лукашевич Д.Е. — младший научный сотрудник лаборатории бруцеллеза ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Курчева С.А. — к.б.н., ведущий научный сотрудник научно-производственной лаборатории препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Русанова Д.В. — к.м.н., заведующая научно-производственной лабораторией препаратов для диагностики особо опасных и других инфекций ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Куличенко А.Н. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ставрополь, Россия

Authors:

Ponomarenko D.G., PhD (Biology), Head, Laboratory of Brucellosis, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Kostyuchenko M.V., Biologist, Sector of Immunology and Pathomorphology of Particularly Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Rakitina E.L., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Sector of Immunology and Pathomorphology of Particularly Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Logvinenko O.V., PhD (Biology), Head, Sector of Immunology and Pathomorphology of Particularly Dangerous Infectious Diseases, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Khachaturova A.A., Biologist, Laboratory of Brucellosis, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Lukashevich D.E., Junior Research Associate, Laboratory of Brucellosis, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Kurcheva S.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Diagnostic Drugs for the Particularly Dangerous and Other Infections, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Rusanova D.V., PhD (Medicine), Head, Laboratory of Diagnostic Drugs for the Particularly Dangerous and Other Infections, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Kulichenko A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Director, Stavropol Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Поступила 02.11.2022

Отправлена на доработку 07.11.2022

Принята к печати 16.02.2023

Received 02.11.2022

Revision received 07.11.2022

Accepted 16.02.2023