

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

С.В.Балахонов, В.В.Войткова, В.И.Дубровина, К.М.Корытов, А.В.Корнева, Т.Т.Шкаруба

ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ КЛЕТОК КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫМИ СТЕНКАМИ *FRANCISELLA TULARENSIS* РАЗНЫХ ПОДВИДОВ

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Изучить субпопуляционный состав клеток крови экспериментальных животных, привитых клеточным стенкам (КС) *Francisella tularensis* разных подвидов. **Материалы и методы.** 210 сертифицированных (НПО «Вектор», Новосибирск) беспородных мышей иммунизировали препаратами КС *F. tularensis* разных подвидов в дозе 95 мкг по белку. Животных выводили из эксперимента на 3, 7, 10, 14 и 21 сутки наблюдения и определяли фенотип (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD69) клеток крови. **Результаты.** Динамика клеточного баланса лейкоцитов крови у экспериментальных животных зависела от подвидовой принадлежности штамма туляремийного микроба, из которого был выделен препарат. Все исследуемые препараты способствуют развитию клеточного и гуморального иммунитета, что проявляется в увеличении содержания моноцитов и В-лимфоцитов, а также экспрессии маркера активации CD69. КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* А-61 способствуют активации клеточного звена иммунитета экспериментальных животных в большей степени, чем другие препараты. Возможно, что именно этот фактор обуславливает его высокую иммуногенную активность (выживаемость 83%). **Заключение.** На основании полученных данных существует необходимость дальнейшего детального исследования иммуногенных свойств КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* А-61 в качестве перспективного компонента при конструировании вакцины против туляремии.

Журн. микробиол., 2018, № 5, С. 3—9

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, клеточные стенки, экспериментальные животные, кровь, проточная цитометрия

S.V.Balakhonov, V.V.Voitkova, V.I.Dubrovina, K.M.Korytov, A.V.Korneva, T.T.Shkaruba

IMMUNOPHENOTYPING OF BLOOD CELLS OF EXPERIMENTAL ANIMALS IMMUNIZED WITH CELLULAR WALLS OF *FRANCISELLA TULARENSIS* DIFFERENT SUBSPECIES

Irkutsk Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. To study the subpopulational structure of blood cells of the experimental animals immunized with cellular walls (CW) of *Francisella tularensis* different subspecies. **Materials and methods.** Total 210 certified («Vector», Novosibirsk) outbred mice were immunized with CW preparations of *F. tularensis* different subspecies in 95 µg protein dose. After 3, 7, 10, 14 and 21 days of observation the phenotypes (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD69) of blood cells were detected. **Results.** Dynamics of leukocyte balance in experimental animals depended on *F. tularensis* subspecies. All studied preparations promoted development of cellular and humoral immunity that confirmed by the increase of monocytes and B-lymphocyte, and also by the expression of CD69 activation marker. CW of *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* А-61 promoted higher activation of cellular immunity in experimental animals in comparison with other preparations. Probably, exactly this factor causes its high immunogenic activity (83 % survival rate). **Conclusion.** On the basis of the results there is a necessity to further detailed research of CW immunogenic properties of *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* А-61 as a perspective component in design of a tularemia vaccine.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 5, P. 3—9

Key words: *Francisella tularensis*, cell wall, experimental animals, blood, flow cytometry

ВВЕДЕНИЕ

Возбудитель туляремии, *Francisella tularensis*, включен в список потенциальных агентов биотерроризма с высшей категорией опасности «А» [10], что, несомненно, говорит об актуальности широкого исследования механизмов вирулентности возбудителя туляремии и поиска путей создания вакцины нового поколения против этой болезни.

Антигенные детерминанты на поверхности клеток туляремийного микроба, в частности липополисахариды, обладают высокой протективной активностью [1], что обуславливает возможность использования поверхностных структур в качестве компонентов безопасных и эффективных профилактических и диагностических препаратов. Однако модификация структуры липополисахаридов [9] и состава белков наружной мембраны [11] между подвидами *F. tularensis* может оказывать значительное влияние на вирулентность бактерий и, как следствие, на иммуногенность субклеточных фракций.

Баланс показателей клеточного звена иммунитета является важнейшим условием поддержания эффективного иммунного ответа на внедрение патогена или его антигенов. Цель работы — изучение влияния препаратов клеточных стенок *F. tularensis* разных подвинов на функциональное состояние и субпопуляционный состав клеток крови мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 210 сертифицированных (НПО «Вектор», Новосибирск) беспородных мышах, стандартных по условиям содержания и массе (15—20 г).

В качестве объектов исследования использовали 5 препаратов клеточных стенок (КС) *F. tularensis*, полученных из штаммов живых культур *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ (группа 1), *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 (группа 2), *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 (группа 3), *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61 (группа 4), *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole (группа 5), находящихся в коллекции музея живых культур Иркутского научно-исследовательского противочумного института. Обеззараженные препараты клеточных стенок получали лизисом живых клеток *F. tularensis* раствором мочевины [4]. В качестве положительного контроля служил коммерческий препарат липополисахарида (ЛПС) *E. coli* (Sigma, США) с известными свойствами (группа 6).

Подопытным животным подкожно вводили препараты клеточных стенок в ранее установленной иммунизирующей дозе 95 мкг по белку в 0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР) pH 7,2 [8], которая защищала мышей при экспериментальной туляремийной инфекции. Для унификации эксперимента ЛПС *E. coli* вводили в той же дозировке. Контролем служили мыши, получившие ЗФР в объеме 0,2 мл — группа 7. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (GLP). Учет результатов проводили на 3, 7, 10, 14 и 21 сутки.

Фенотип клеток крови мышей определяли методом фенотипирования с использованием реагентов фирмы Becton Dickinson (США): CD45-APC, CD3-FITC, CD4-Alexa-700, CD8-APC-Cy7, CD19-PE-Cy7, CD69-PE-Cy5 [2]. Анализ окрашенных образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Canto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva версии 6.0. В каждой пробе анализировалось 10 000 событий CD45⁺-клеток, которые выделяли на графике SSC/CD45. Оценивали абсолютное содержание лейкоцитов (10⁹ кл/л) и относительное содержание (%) основных популяций: гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов. В лимфоцитарном гейте определяли общее содержание Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), В-лимфоцитов (CD3⁻CD19⁺). Для оценки функционального состояния клеток крови оценивали уровень экспрессии CD69.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6.1 с использованием непараметрических критериев. Данные представлены в виде медианы

и интерквартильного размаха — Ме ($Q_{25}\%$ — $Q_{75}\%$). Различия считали достоверными при уровне значимости $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе экспериментов установлено, что показатели абсолютного содержания лейкоцитов у экспериментальных животных, иммунизированных КС *F. tularensis*, находились в пределах физиологической нормы (от $5,1$ до $11,6 \cdot 10^9$ кл/л). Тем не менее, выявлена тенденция ($0,05 > P < 0,10$) к снижению лейкоцитов в крови у мышей, получивших КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 ($5,5 (4,9—6,0) \cdot 10^9$ кл/л), КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 ($5,2 (4,6—6,0) \cdot 10^9$ кл/л), на 3 сутки в среднем в 1,4 раза по сравнению с контролем — $7,5 (5,1—8,9) \cdot 10^9$ кл/л.

Установлено, что исследуемые препараты КС *F. tularensis* не оказывали влияние на процентное содержание гранулоцитов и лимфоцитов. Показатели содержания этих клеток находились в пределах физиологической нормы $10—41\%$ и $63—75\%$ [6]. Вместе с тем, отмечено увеличение клеток моноцитарного ряда (рис. 1) на 3, 7 и 10 сутки у мышей, получивших КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61, в случае КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 — на 3, 7, 10 и 14 сутки, а КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ и ЛПС *E. coli* — во все сроки наблюдения в среднем в 1,6 раза по сравнению с контролем ($1,8 (1,4—2,1)\%$, $P \leq 0,05$). При этом у животных 3 ($4,7 (2,8—6,2)\%$) группы регистрировались наибольшие значения этого показателя на 3 сутки по сравнению с другими группами животных ($P \leq 0,01$).

У животных, иммунизированных КС *F. tularensis* разных подвидов, наблюдалось перераспределение клеточного баланса субпопуляций лимфоцитов (табл.) в сторону В-клеток на 10, 14 и 21 сутки наблюдения, за исключением КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 и ЛПС *E. coli* — увеличение процентного содержания $CD3^+CD19^+$ -клеток регистрировалось только на 14 сутки наблюдения ($32,7 (28,8—33,6)$, $P < 0,05$ и $28,2 (23,0—33,1)$, $P < 0,01$ соответственно). Тем не менее, статистически значимые изменения содержания Т-лимфоцитов ($CD3^+$) отмечены во 2 группе на 14 ($54,4 (50,2—61,7)\%$, $P < 0,01$) и 21 ($59,9 (54,6—63,3)\%$, $P < 0,05$), в 3 группе — на 10 ($62,6 (60,8—65,0)\%$, $P < 0,05$) и 14 сутки ($56,1 (54,8—56,8)\%$, $P < 0,01$), в 5 группе — на 3 ($77,6 (70,1—80,7)\%$, $P < 0,05$), 14 ($55,3 (51,1—64,9)\%$, $P < 0,05$) и 21 ($54,4 (51,3—63,8)\%$, $P < 0,01$) сутки наблюдения по сравнению с интактными животными ($67,5 (64,2—72,5)$). Следует отметить, что на поздних сроках также имело место снижение процентного содержания Т-хелперов.

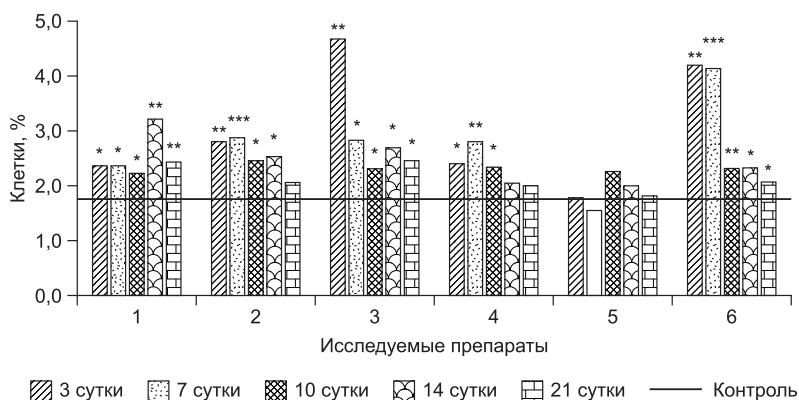


Рис. 1. Динамика содержания моноцитов в крови у экспериментальных животных, иммунизированных КС *F. tularensis* разных подвидов (Ме).

1 — КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ; 2 — КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306; 3 — КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112; 4 — КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61; 5 — КС *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole; 6 — ЛПС *E. coli*; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ по сравнению с контролем.

Показатели относительного содержания субпопуляций лимфоцитов, Me (Q₂₅%—Q₇₅%)

Препарат	Сроки наблюдения, сутки	Субпопуляции лимфоцитов			
		CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD19 ⁺	CD3 ⁺ CD19 ⁺ CD69 ⁺
Контроль		55,4 (49,3-60,7)	0,57 (0,35-0,86)	20,8 (17,2-26,9)	0,15 (0,08-0,20)
КС F. tularensis	3	57,3 (54,0-59,9)	4,57 (4,03-5,11)**	18,5 (15,5-21,2)	0,14 (0,03-0,47)
subsp. holarctica	7	56,7 (54,9-60,4)	1,07 (0,91-1,51)*	17,4 (15,5-21,6)	0,20 (0,16-0,30)
15 НИИЭГ	10	42,3 (40,2-45,9)**	0,39 (0,35-0,42)	29,7 (26,3-32,4)*	0,46 (0,42-0,48)**
	14	48,8 (44,2-54,0)*	0,58 (0,13-0,79)	28,4 (27,7-31,9)*	0,20 (0,16-0,21)
	21	44,1 (42,5-46,3)**	3,08 (2,40-5,41)**	30,9 (27,5-35,5)*	0,77 (0,75-0,78)**
КС F. tularensis	3	58,9 (58,1-61,1)	3,02 (2,41-3,44)***	16,1 (11,9-16,4)*	0,19 (0,18-0,26)
subsp. holarctica	7	52,4 (49,7-53,7)	1,32 (0,57-1,80)*	22,1 (19,2-26,1)	0,36 (0,20-0,58)*
306	10	43,9 (35,5-47,9)**	0,40 (0,35-0,62)	28,1 (23,1-40,4)*	0,32 (0,17-0,52)*
	14	48,1 (43,6-52,4)*	0,24 (0,10-0,40)*	38,5 (31,0-39,3)**	0,18 (0,15-0,22)
	21	44,1 (40,6-46,6)**	0,11 (0,10-0,19)**	35,6 (31,1-37,7)**	0,33 (0,15-0,66)*
КС F. tularensis	3	48,1 (45,8-50,7)	1,51 (1,18-2,67)*	21,8 (19,4-22,9)	0,66 (0,51-0,83)**
subsp. novicida	7	52,0 (46,0-57,7)	1,97 (1,56-2,36)**	24,4 (19,8-28,6)	0,15 (0,11-0,20)
Utah 112	10	48,4 (45,7-49,9)*	1,70 (0,46-2,79)*	24,4 (22,1-28,2)	0,26 (0,19-0,35)*
	14	45,2 (43,1-46,2)**	0,30 (0,23-0,61)	32,7 (28,8-33,6)*	0,33 (0,28-0,40)**
	21	54,6 (47,2-59,4)	0,22 (0,14-0,29)*	21,4 (18,3-24,1)	0,30 (0,14-0,36)
КС F. tularensis	3	57,1 (50,8-62,8)	1,84 (1,21-2,94)*	16,7 (12,2-19,9)	0,22 (0,18-0,32)
subsp. mediasiatica	7	56,7 (53,3-58,8)	0,90 (0,58-0,94)	16,2 (15,4-21,8)	0,13 (0,08-0,19)
A-61	10	44,1 (43,1-48,4)**	0,44 (0,38-1,27)	29,8 (21,0-32,9)**	0,46 (0,33-0,48)**
	14	48,0 (44,9-56,3)	3,50 (1,01-3,60)**	25,4 (17,3-32,3)*	0,42 (0,29-0,61)***
	21	53,0 (49,5-54,3)	2,05 (0,95-3,56)*	27,5 (25,1-30,7)*	0,41 (0,21-0,81)*
КС F. tularensis	3	63,3 (53,3-70,8)	1,38 (1,09-1,93)*	12,0 (8,3-15,2)*	0,17 (0,13-0,25)
subsp. tularensis	7	50,2 (47,4-50,8)	0,97 (0,88-0,98)	30,7 (28,4-31,7)*	0,25 (0,24-0,27)*
B-399 A-Cole	10	46,9 (42,3-48,6)**	1,55 (0,62-2,48)	26,3 (25,7-26,8)*	0,41 (0,26-0,60)**
	14	41,0 (39,1-45,1)**	1,48 (1,32-2,45)**	31,2 (27,3-34,2)*	0,46 (0,37-0,52)**
	21	41,7 (40,4-47,8)**	4,08 (2,84-5,08)***	33,2 (31,7-35,6)**	0,96 (0,87-1,08)***
ЛПС E. coli	3	58,9 (47,6-63,2)	1,97 (1,18-2,71)*	18,5 (15,3-24,2)	0,20 (0,12-0,28)
	7	58,5 (55,2-58,9)*	0,43 (0,34-0,51)	19,2 (13,4-21,9)	0,14 (0,10-0,16)
	10	49,3 (47,8-53,4)	0,89 (0,70-1,45)	23,6 (16,7-31,7)	0,26 (0,22-0,32)*
	14	44,7 (40,8-50,5)*	0,82 (0,64-0,94)	28,2 (23,0-33,1)**	0,33 (0,29-0,68)**
	21	52,4 (50,7-54,9)	0,21 (0,11-0,25)*	22,4 (16,8-30,4)	0,38 (0,22-0,80)*

Примечание. * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001 по сравнению с контролем.

При оценке функционального состояния клеток крови изменения экспрессии маркера пролиферации CD69 было отмечено у моноцитов и гранулоцитов (рис. 2). Так, у мышей 1 группы на 3 и 7 сутки зарегистрировано увеличение CD69-положительных моноцитов, у мышей 4 группы — на 3, 7 и 10 сутки, а у 2, 3, 5 и 6 групп — на 3 сутки по сравнению с интактными животными. Аналогичное изменение наблюдалось во всех группах в отношении гранулоцитов на 3 сутки в среднем в 3,0 раза по сравнению с контролем. Причем у мышей, получивших КС F. tularensis subsp. novicida Utah 112, содержание CD69⁺-гранулоцитов было достоверно выше, чем в других экспериментальных группах (54,5 (41,4—53,3), P<0,01). Обращает на себя внимание тот факт, что в группе животных, иммунизированных КС F. tularensis subsp. mediasiatica A-61 и ЛПС E. coli, на 10 сутки отмечалось достоверное снижение CD69-положительных гранулоцитов.

Результаты статистического анализа CD69-позитивных клеточных субпопуляций лимфоцитов представлены в табл., из которой видно, что все исследуемые препараты оказывали влияние на экспрессию данного маркера Т- и В-клетками. Так, у экспериментальных животных всех групп наблюдалось увеличение содержания CD3⁺CD69⁺, CD3⁺CD8⁺CD69⁺ и CD3⁺CD4⁺CD69⁺ клеток на 3 и 7 сутки после им-

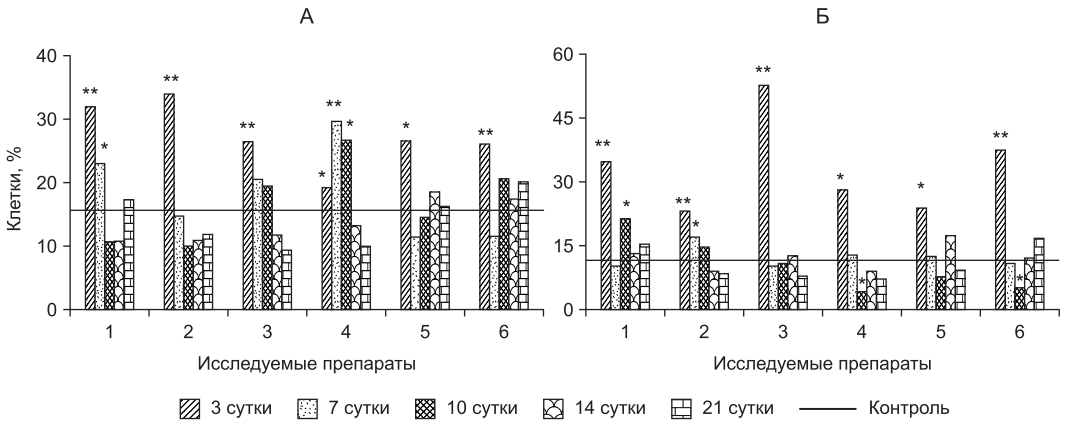


Рис. 2. Динамика содержания моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD69, в крови у экспериментальных животных (Ме).

А — моноциты; Б — гранулоциты; 1 — КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ; 2 — КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306; 3 — КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112; 4 — КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61; 5 — КС *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole; 6 — ЛПС *E. coli*; * P < 0,05; ** P < 0,01 по сравнению с контролем.

мунизации. При этом динамика экспрессии CD69⁺ лимфоцитами крови зависела от подвидовой принадлежности туляремийного микроба. У мышей, получивших КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 и КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, отмечалось снижение CD3⁺CD69⁺ клеток на 21 сутки наблюдения за счет CD3⁺CD4⁺CD69⁺ клеток, в то время как процентное содержание CD3⁺CD8⁺CD69⁺ клеток было статистически значимо выше по сравнению с контролем. Препараты КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 НИИЭГ и КС *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole приводили к увеличению Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD69 как за счет CD3⁺CD4⁺CD69⁺, так и CD3⁺CD8⁺CD69⁺ клеток. У мышей, получивших КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61, наблюдалась аналогичная картина на 14 сутки наблюдения, а на 21 сутки выявлено достоверное увеличение процента CD3⁺CD4⁺CD69⁺ клеток и тенденция к снижению CD3⁺CD8⁺CD69⁺ клеток. В случае ЛПС *E. coli* имело место увеличение CD3⁺CD69⁺ клеток за счет CD3⁺CD8⁺CD69⁺ на 14 сутки наблюдения с последующим снижением CD69⁺ Т-лимфоцитов.

Динамика изменения В-лимфоцитов, экспрессирующих CD69⁺, у мышей 1 группы носила фазный характер — увеличения этих клеток на 10 и 21 сутки наблюдения. В целом увеличение процентного содержания этих клеток во всех группах исследования наблюдалось на 10 сутки, за исключением КС *F. tularensis* subsp. *holarctica* 306 и КС *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole, у которых повышение отмечалось уже на 7 сутки. У экспериментальных животных 3 группы (КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112) повышение содержания этих клеток отмечалось на 3, 10 и 14 сутки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что динамика клеточного баланса лейкоцитов крови у экспериментальных животных зависела от подвидовой принадлежности штамма туляремийного микроба, из которого был выделен препарат КС.

Все исследуемые препараты способствуют формированию клеточного иммунного ответа за счет увеличения как общего процентного содержания моноцитов в крови, так и CD69-положительных клеток. Подтверждением тому является увеличение процента активированных гранулоцитов, экспрессирующих CD69. У мышей 3 группы, получивших КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, наблюдались статистически значимо высокие показатели содержания моноцитов на протяжении всего срока эксперимента при незначительном увеличении процента CD69-положительных клеток. В то время как у мышей 4 группы (КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*

A-61) на фоне незначительного изменения содержания моноцитов отмечалось наиболее продолжительное повышение содержания активированных CD69⁺-клеток (с 3 по 10 сутки наблюдения), увеличение процента активированных клеток было более интенсивным. Возможно, вышеописанные изменения связаны с высоким синтезом ГМ-КСФ и ФНО- α у мышей, получивших КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, и ГМ-КСФ в случае — КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61 на 7 сутки исследования [5].

О формировании гуморального иммунного ответа экспериментальных животных на введение КС свидетельствует смещение клеточного баланса в сторону В-лимфоцитов и увеличение доли CD19⁺CD69⁺-клеток на поздних сроках наблюдения. Важно отметить, что наиболее высокие показатели их содержания отмечались у мышей, иммунизированных КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61. У животных, получивших КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112, увеличение CD69-позитивных В-лимфоцитов отмечалось уже на 3 сутки наблюдения. Данное обстоятельство может свидетельствовать о различиях в механизмах активации иммунного ответа, поскольку В-лимфоциты могут выступать в качестве антиген-представляющих клеток и активироваться на ранних этапах развития иммунитета в случае тимуснезависимых антигенов [7].

Наблюдаемые различия субпопуляционного состава клеток крови у мышей, получивших препараты КС туляремийного микроба, можно объяснить различной протеолитической активностью и полипептидным составом изучаемых препаратов [3]. Показано, что КС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 и КС *F. tularensis* subsp. *tularensis* B-399 A-Cole (высоковирулентные штаммы), обладающие наименьшей протеолитической активностью, имеют более широкий спектр протеаз по сравнению с другими препаратами. Выявленные особенности клеточного баланса у мышей экспериментальных групп могут быть обусловлены строением липополисахарида (ЛПС), входящего в состав препаратов. Например, в отличие от других представителей вида, липид АЛПС *F. tularensis* subsp. *novicida* Utah 112 модифицирован остатком маннозы [14] и более 90% его находится в свободном состоянии, то есть не связан с core олигосахаридом и O-антигеном [14, 15], а также к core ЛПС присоединен добавочный α -глюкозный остаток к β -Glc [13]. Структура липида А в 1 позиции редуцированного остатка глюкозамина у *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* и *novicida* U112 присоединена фосфатная группа. Интересно то, что эта фосфатная группа замещена положительно заряженным сахаром, галактозамином [12], который у *F. tularensis* subsp. *novicida* соединен α -связью [14].

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод о том, что КС *F. tularensis* разных подвидов оказывают стимулирующее влияние на пролиферацию моноцитов и гранулоцитов мышей и формирование гуморального иммунитета. Важно отметить, что КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61 способствуют активации клеточного звена иммунитета экспериментальных животных в большей степени, чем другие препараты. Возможно, что именно этот фактор обуславливает его высокую иммуногенную активность (выживаемость 83%) [8].

На основании полученных данных существует необходимость дальнейшего детального исследования иммуногенных свойств КС *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* A-61 в качестве перспективного компонента при конструировании вакцины против туляремии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Татарников С.А., Войткова В.В., Марков Е.Ю., Мазепа А.В. Клеточные и гуморальные факторы иммунитета в патогенезе туляремии: монография. Иркутск: ИНЦХТ, 2017.
2. Войткова В.В., Дубровина В.И., Колесникова О.Б., Коновалова Ж.А., Лукьянова С.В., Бельков А.И. Методические рекомендации по выявлению фосфатидилсерина на лимфоцитах крои мышей с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto™ II. Иркутск, 2010.
3. Корнева А.В., Николаев В.Б., Козлов С.Н., Марков Е.Ю., Мазепа А.В., Попова Ю.О. Выявление мембрансвязанных протеаз *Francisella tularensis*. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016, 1 (5): 155-159.

4. Корнева А.В., Николаев В.Б., Ястремская К.Ю., Марков Е.Ю., Войткова В.В., Соловьев С.Ю., Попова Ю.О., Мазепа А.В., Половинкина В.С. Результаты изучения иммуногенной активности клеточных оболочек *Francisella tularensis* разных подвидов (сообщение 1). Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2014, 4: 73-77.
5. Корнева А.В., Николаев В.Б., Ястремская К.Ю., Марков Е.Ю., Войткова В.В., Соловьев С.Ю., Попова Ю.О., Мазепа А.В., Половинкина В.С. Результаты изучения иммуногенной активности клеточных оболочек *Francisella tularensis* разных подвидов (сообщение 2). Acta Biomedica Scientifica. 2015, 1: 63-66.
6. Линева А.П. Физиологические показатели нормы животных. Справочник. М., «Аквариум» ФГУИППВ, 2003.
7. Чирулов Л.П., Васильев А.Г. Патифизиология иммунной системы: Учебное пособие. СПб, Фолиант, 2014.
8. Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Voitkova V.V., Korytov K.M., Starovoitova T.P., Ivanova T.A., Korneva A.V., Nikolaev V.B., Shkaruba T.T. Cell envelopes of *Francisella tularensis*: immunogenic activity and toxicity. J. Cell. Biol. Cell. Metab. 2017, 4 (014): 1–3.
9. Gunn J. S., Ernst R. K. The Structure and Function of *Francisella* LPS. Annals New York Academy Sciences. 2007, 1105: 202-218.
10. Hepburn M.J., Friedlander A. M., Dembek Z.F. (ed.). Chapter 8: Tularemia. In: Textbooks of military medicine: medical aspects of biological warfare. Washington: Borden Institute. 2007: 167-184.
11. Huntley J.F., Conley P.G., Rasko D.A. et al. Native outer membrane proteins protect mice against pulmonary challenge with virulent type A *Francisella tularensis*. Infect. Immun. 2008, 8: 3664-3671.
12. Phillips N.J., Schilling B., McLendon M.K. et al. Novel modification of lipid A of *Francisella tularensis*. Infect. Immun. 2004, 72 (9): 5340-5348.
13. Vinogradov E., Perry M. B. Characterization of the core part of the lipopolysaccharide O-antigen of *Francisella novicida* (U112). Carbohydr. Res. 2004, 339 (9): 1643-1648.
14. Wang X., Ribeiro A.A., Guan Z. et al. Structure and biosynthesis of free lipid A molecules that replace lipopolysaccharide in *Francisella tularensis* subsp. *novicida*. Biochemistry. 2006, 45 (48): 14427-14440.
15. Zhao J., Raetz C.R. A two-component Kdo hydrolase in the inner membrane of *Francisella novicida*. Mol. Microbiol. 2010, 78 (4): 820-836.

Поступила 28.02.18

Контактная информация: Дубровина Валентина Ивановна, д.б.н., 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78, р.т. (3952)22-01-39

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Л.И.Жукова^{1,3}, *Г.К.Рафеенко*^{1,2}, *В.Н.Городин*^{1,3}, *А.А.Ванюков*^{1,3}

КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТЕРОВИРУСНЫХ НЕПОЛИОМИЕЛИТНЫХ ИНФЕКЦИЙ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

¹Кубанский государственный медицинский университет, ²Центр гигиены и эпидемиологии в Краснодарском крае, ³Специализированная клиническая инфекционная больница, Краснодар

Цель. Характеристика эпидемической ситуации и клинического течения энтеровирусных (неполио) инфекций в Краснодарском крае. *Материалы и методы.* Ретроспективный анализ проявлений эпидемического процесса и клиническая характеристика неполиомиелитных энтеровирусных инфекций с 2002 по 2017 гг. на территории Краснодарского края. *Результаты.* Оценена заболеваемость энтеровирусными инфекциями, структура клинических форм, продемонстрирован пейзаж энтеровирусов, выделенных из внешней среды и биологического материала больных. Охарактеризовано клиническое течение энтеровирусной инфекции у 170 госпитализированных больных. *Заключение.* Энтеровирусная (неполио) инфекция в Краснодарском крае в многолетней динамике демонстрирует возрастающую актуальность. Сохраняется разнообразие циркулирующих