

7. Lasch P., Nattermann H., Elchard M. et al. MALDI-TOF mass-spectrometry compatible inactivation method for highly pathogenic microbial cells and spores. *Analytical chemistry*. 2008, 80: 2026-2034.
8. Lasch P., Drevinek M., Nattermann H. et al. Characterization of Yersinia using MALDI-TOF mass-spectrometry and chemometrics. *Analytical chemistry*. 2010, 82: 206 -210.
9. Lasch P., Grunow R., Antonation K. et al. Inactivation techniques for MALDI-TOF MS analysis of highly pathogenic bacteria — A critical review. *Trends in Analytical Chemistry*. 2016, 1: 13-15
10. Le Fléche P., Hauck Y., L. et al. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of Yersinia pestis and Bacillus anthracis. *BMC Microbiology*. 2001, 1: 23-34.
11. Li I., Cui Y., Hauck Y. et al. Genotyping and Phylogenetic Analysis of Yersinia pestis by MLVA: Insights into the Worldwide Expansion of Central Asia Plague Foci. *PLoS ONE*. 2009, 4: 45-53.
12. Panda A. MALDI-TOF mass spectrometry for rapid identification of clinical fungal isolates based on ribosomal protein biomarkers. *Journal of microbiological methods*. 2015, 109: 93-105.
13. Salman M.D., Steneroden K. Important Public Health Zoonoses through cattle. *Zoonoses-Infections affecting humans and animals*. Springer Netherlands. 2015, 1: 3-22.
14. Van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper E.J. High-throughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010, 3: 900-907.
15. Woron A.M., Nazarian E.J., Egan C. et al. Development and evaluation of a 4-target multiplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection and characterization of Yersinia pestis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2006, 56: 261—268.

*Поступила 11.03.19*

Контактная информация: Котенева Елена Анатольевна, к.б.н.,  
355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652)26-03-12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

*С.В.Балахонов, В.И.Дубровина, В.В.Войткова, К.М.Корытов, Н.Л.Баранникова, В.Б.Николаев, Т.Т.Шкаруба*

## **ИММУНОФЕНОТИПИРОВАНИЕ КЛЕТОК КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ТЕРМОЭКСТРАКТАМИ BRUCELLA ABORTUS**

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт

*Цель.* Изучить субпопуляционный состав клеток крови экспериментальных животных, привитых термоэкстрактами (ТЭ) *Brucella abortus* в L- или S-форме. *Материалы и методы.* 100 сертифицированных (НПО «Вектор», Новосибирск) беспородных мышей иммунизировали ТЭ *B. abortus* И-206 в L- или S-форме в дозе 20 мкг по белку. Животных выводили из эксперимента на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки наблюдения и определяли фенотип (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD69) клеток крови. *Результаты.* Выявлены общие закономерности при введении исследуемых препаратов. Так, ТЭ *B. abortus* в L- и S-форме приводят к формированию иммунного ответа, который проявляется увеличением содержания гранулоцитов и экспрессии CD69 Т- и В-лимфоцитами крови на ранние сроки наблюдения (1-3 сутки), снижением общего содержания В-лимфоцитов на поздние сроки наблюдения (7-21 сутки). При этом, у мышей, получивших ТЭ *B. abortus* в L-форме, показатели экспрессии CD69 субпопуляций лимфоцитов крови были достоверно выше, чем у мышей, получивших ТЭ *B. abortus* в S-форме. Выявлены различия в формировании гуморального иммунного ответа, что, возможно, связано с изменением химического состава бруцелл в процессе L-трансформации. *Заключение.* В ходе исследования установлено, что термоэкстракты *B. abortus* в L- или S-форме приводят к иммунологической перестройке организма экспериментальных животных. На основании полученных данных существует необходимость дальнейшего детального исследования иммуногенных свойств ТЭ *B. abortus* в L- или S-форме.

Журн. микробиол., 2019, № 4, С. 25—31

Ключевые слова: *Brucella abortus*, термоэкстракт, экспериментальные животные, кровь, проточная цитометрия

## IMMUNOPHENOTYPING OF BLOOD CELLS OF EXPERIMENTAL ANIMALS IMMUNIZED WITH *BRUCELLA ABORTUS* THERMOEXTRACTS

Irkutsk Research Institute for Plague Control, Russia

*Aim.* To study the subpopulational structure of blood cells of the experimental animals immunized with thermoextracts (TE) of *Brucella abortus* in L- and S-form. *Materials and methods.* Total 100 certified («Vector», Novosibirsk) outbred mice were immunized with *B. abortus* I-206 TE in L- and S-form in 20 µg protein dose. After 1, 3, 7, 14 and 21 days of observation the phenotypes (CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD69) of blood cells were detected. *Results.* General regularities were revealed after injection of the experimental preparations. So, *B. abortus* TE in L- and S-form caused the immune response that increased granulocyte number and expression of early activation marker CD69 by T- and B-lymphocytes of blood in early period of observation (1-3 days), decrease in general B-lymphocyte content in late periods of observation (7-21 days). Thus, mice received *B. abortus* TE in L-form demonstrated authentically higher CD69 expression of blood lymphocyte subpopulations than mice received *B. abortus* TE in S-form. Distinctions in formation of humoral immune response were revealed that probably was connected with alteration of *Brucella* chemical composition in the course of L-transformation. *Conclusion.* The investigation established that *B. abortus* TE in L- or S-form caused immunological reorganization in the experimental animal organisms. On the basis of the findings it is necessary to further detailed testing of immunogenic properties of *B. abortus* TE in L- or S-form.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 4, P. 25—31

Key words: *Brucella abortus*, thermoextract, experimental animal, blood, flow cytometry

## ВВЕДЕНИЕ

Бруцеллез — острое высокоинвазивное инфекционное заболевание с высокой потенциальной возможностью перехода в хроническую форму. Бруцеллез характеризуется длительностью протекания, трудно поддается лечению и поражает практически все органы и системы организма (опорно-двигательный аппарат, сердечно-сосудистая, нервная системы и др.), что нередко сопровождается инвалидизацией больного. Заболевают, как правило, люди трудоспособного возраста, профессиональная деятельность которых связана с уходом за животными, переработкой сырья и продуктов животного происхождения, а также в результате употребления инфицированного мяса, молока и молочных продуктов, не прошедших достаточную термическую обработку [2]. Кроме того, особой группой риска являются дети, среди которой ежегодно регистрируются случаи впервые диагностированного бруцеллеза [1]. Несмотря на то, что по данным Роспотребнадзора за 2018 год зарегистрировано снижение количества впервые выявленного бруцеллеза у людей на 12,7%, тем не менее, эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу рассматривается как неустойчивая в связи с ухудшением эпизоотологической ситуации по бруцеллезу крупного рогатого скота в регионах с развитым животноводством [9].

Важным мероприятием поддержания эпидемиологического благополучия населения РФ по бруцеллезу является вакцинопрофилактика сельскохозяйственных животных и людей. В настоящее время для вакцинации людей применяют живую лиофилизированную вакцину из штамма *Brucella abortus* 19-ВА. Известно, что данный препарат обеспечивает развитие иммунитета продолжительностью до года с максимальной напряженностью на 5-6 месяце [6]. Однако данная вакцина может вызывать тяжелые поствакцинальные осложнения [10]. В связи с этим, актуальным направлением исследований является оценка иммунологической эффективности различных антигенных препаратов.

Цель работы — изучение влияния термоэкстрактов *Brucella abortus* в L- и S-формах на клеточный состав крови мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 100 сертифицированных мышах массой 15-20 г (НПО «Вектор», Новосибирск), содержащихся в стандартных условиях.

В качестве объектов исследования использовали 2 препарата термоэкстрактов (ТЭ), полученных из штамма *B. abortus* И-206 в L- (группа 1) и S-формах (группа 2). Подопытным животным подкожно вводили препараты ТЭ в ранее установленной иммунизирующей дозе 20 мкг по белку в 0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР) pH 7,2. Контролем служили мыши, получившие ЗФР в объеме 0,2 мл — группа 3. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (GLP). Учет результатов проводили на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки.

Фенотип клеток крови мышей определяли методом фенотипирования с использованием реагентов фирмы Becton Dickinson (США): CD45, CD3, CD4, CD8, CD19, CD69 [3]. Окрашивание образцов проводили в пробирках для абсолютного подсчета клеток BD Trucount™ и анализировали 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<sup>+</sup>-клеток, которые выделяли на графике SSC/CD45. Оценивали абсолютное содержание (10<sup>9</sup> кл./л) лейкоцитов, в том числе гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, а также их относительное содержание (%). В лимфоцитарном гейте определяли процентное содержание следующих субпопуляций: общее содержание Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), Т-хелперов (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) и цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>), В-лимфоцитов (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>). Для оценки функционального состояния клеток крови оценивали уровень экспрессии CD69.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 6.1. Проверка нормальности количественных признаков была проведена с использованием Шапиро-Уилка. Поскольку все исследуемые показатели удовлетворяли гипотезе о нормальном распределении, анализ данных проводили с помощью ANOVA. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. Различия считали достоверными при уровне значимости  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе экспериментов статистически значимых различий содержания лейкоцитов и их популяций в крови мышей опытных групп по сравнению с контролем выявлено не было. Абсолютное содержание лейкоцитов у экспериментальных животных, иммунизированных ТЭ *B. abortus*, находилось в пределах физиологической нормы (от 5,1 до 11,6·10<sup>9</sup> кл./л). Средние показатели абсолютного содержания гранулоцитов в группе 1 и 2 колебались от 0,79 до 2,18·10<sup>9</sup> кл./л, лимфоцитов — от 2,0 до 7,0·10<sup>9</sup> кл./л, моноцитов — от 0,06 до 0,23·10<sup>9</sup> кл./л. Относительный уровень основных популяций лейкоцитов у всех групп экспериментальных животных также находился в пределах физиологической нормы: моноциты 0,7 — 2,6%; гранулоциты 10 — 41%; лимфоциты 63 — 75% [5]. Тем не менее, у мышей опытных групп на 7 сутки наблюдения отмечено повышение относительного количества гранулоцитов ( $P < 0,05$ ) в среднем в 1,3 раза по сравнению с контролем (24,9±7,4%). У животных 1 группы также имело место увеличение моноцитов (3,0±0,3%,  $P = 0,003$ ) на 3 сутки по сравнению с интактными животными (2,2±0,6%). Следует отметить, что у мышей, получивших экспериментальные препараты, была зарегистрирована тенденция ( $0,05 > P < 0,10$ ) к снижению содержания лимфоцитов на 7 сутки наблюдения.

В случае экспериментальных животных 1 группы (ТЭ В. abortus в L-форме) тенденция к снижению лимфоцитов отмечалась и на 3 сутки после введения препарата.

Наиболее чувствительным и информативным показателем протекающего воспалительного процесса является изменение процентного содержания Т-лимфоцитов, которым отводится ведущая роль при формировании иммунитета к бруцеллезу [13]. В ходе эксперимента у животных, иммунизированных ТЭ В. abortus в L- и S-форме, статистически значимых изменений относительно уровня CD3<sup>+</sup>-клеток, а также Т-хелперов не выявлено. Тем не менее, при детальном анализе динамики содержания Т-лимфоцитов наблюдалась тенденция к повышению этих клеток на 3 сутки после введения экспериментальных препаратов мышам в среднем в 1,1 раза (ТЭ В. abortus в L-форме — 62,9±4,7%; ТЭ В. abortus S-форме — 66,1±4,7%) по сравнению с контролем (56,8±7,7%). Аналогичное наблюдение отмечено в случае Т-хелперов. Статистически значимое повышение процентного количества цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров) отмечалось только у мышей 2 группы на 14 сутки после введения (13,3±1,6%) по сравнению с контролем (10,7±2,3%). Кроме того, исследуемые препараты оказывали однонаправленный эффект на В-лимфоциты (CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup>), а именно, у мышей опытных групп на 7 и 14 сутки наблюдения регистрировалось снижение количества данной популяции клеток в среднем в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

При оценке функционального состояния клеток крови отмечалась тенденция к снижению моноцитов, экспрессирующих маркер пролиферации CD69, который проявляется на поверхности клеток уже через 2—3 часа после их стимуляции, у мышей опытных групп в зависимости от введенного препарата. Так, у мышей, получивших ТЭ В. abortus в L-форме, изменение процентного содержания этих клеток имело место на 1 (0,49±0,14%) и 3 (0,36±0,09%, P<0,01) сутки наблюдения, а у мышей, получивших ТЭ В. abortus в S-форме — на 7 (0,44±0,10%), в то время как в контрольной группе этот показатель составил 0,73±0,23 %. В случае CD69<sup>+</sup>-гранулоцитов регистрировалось уменьшение их относительного уровня у мышей 2 группы (0,31±0,10%, P<0,05) на 14 сутки наблюдения.

Результаты статистического анализа CD69-позитивных клеточных субпопуляций лимфоцитов представлены в табл. 2, 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 содержа-

Таблица 1. Показатели содержания субпопуляций лимфоцитов крови у мышей, иммунизированных термозекстрактами В. abortus в L- и S-форме, Mean ± SE

Исследуемый показатель	Сроки наблюдения, сутки	Т-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> ), %	Т-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %	Цитотоксические Т-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), %	В-лимфоцитов (CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>+</sup> ), %
ТЭ В. abortus в L-форме	1	58,7 ± 6,9	44,8 ± 3,6	11,8 ± 3,2	28,6 ± 6,8
	3	62,9 ± 4,7	50,8 ± 4,4	10,4 ± 2,1	27,4 ± 3,5
	7	60,7 ± 5,5	48,4 ± 4,2	9,3 ± 2,8	21,7 ± 5,3*
	14	61,4 ± 8,2	47,7 ± 8,4	12,4 ± 2,6	22,4 ± 5,3
	21	51,7 ± 8,5	39,7 ± 12,4	8,7 ± 3,0	32,5 ± 10,0
ТЭ В. abortus в S-форме	1	61,4 ± 6,8	47,4 ± 6,3	10,8 ± 3,4	27,6 ± 6,0
	3	66,1 ± 4,7	55,4 ± 5,0	11,0 ± 3,0	29,6 ± 4,2
	7	62,3 ± 4,1	47,7 ± 3,2	11,0 ± 2,2	22,9 ± 2,0*
	14	56,3 ± 11,7	41,7 ± 11,3	13,3 ± 1,6*	27,4 ± 9,2
	21	52,2 ± 6,5	39,8 ± 5,7	10,8 ± 2,0	30,6 ± 7,0
Контроль	—	56,8 ± 7,7	44,1 ± 6,2	10,7 ± 2,3	29,7 ± 7,8

Примечание. \* P<0,05 по сравнению с контролем.

Таблица 2. Экспрессия маркера пролиферации CD69 лимфоцитами крови у мышей, иммунизированных термоэкстрактами *V. abortus* в L- и S-форме, Mean ± SE

Исследуемый показатель	Сроки наблюдения, сутки	T-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> ), %	T-хелперы (CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> ), %	Цитотоксические T-лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> ), %	B-лимфоцитов (CD3 <sup>-</sup> CD19 <sup>+</sup> ), %
ТЭ <i>V. abortus</i> в L-форме	1	2,01 ± 0,29**	1,10 ± 0,23**	0,37 ± 0,03**	0,68 ± 0,15**
	3	0,84 ± 0,18**	0,81 ± 0,18**	0,07 ± 0,02	0,29 ± 0,12
	7	0,25 ± 0,05	0,32 ± 0,16	0,07 ± 0,01	0,14 ± 0,02
	14	0,41 ± 0,11	0,31 ± 0,07	0,13 ± 0,05	0,26 ± 0,06
	21	0,15 ± 0,09	0,08 ± 0,02	0,01 ± 0,003	0,26 ± 0,12
ТЭ <i>V. abortus</i> в S-форме	1	0,59 ± 0,19*	0,46 ± 0,14*	0,19 ± 0,07**	0,31 ± 0,10
	3	0,53 ± 0,16	0,36 ± 0,08	0,09 ± 0,02	0,41 ± 0,08*
	7	0,43 ± 0,14	0,24 ± 0,08	0,04 ± 0,01	0,11 ± 0,04*
	14	0,40 ± 0,10	0,25 ± 0,09	0,06 ± 0,02	0,23 ± 0,09
	21	0,19 ± 0,04	0,14 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,16 ± 0,07*
Контроль	—	0,34 ± 0,06	0,24 ± 0,13	0,04 ± 0,01	0,21 ± 0,09

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

ния CD3<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> и CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> клеток на 1 и 3 сутки после иммунизации. При этом у мышей 1 группы наблюдалось более выраженное повышение данных показателей (P<0,05). Также выявлены изменения экспрессии CD69 B-лимфоцитами. В случае введения мышам ТЭ *V. abortus* в L-форме увеличение CD3<sup>-</sup>CD19<sup>+</sup> клеток отмечалось на 1 сутки, а ТЭ *V. abortus* в S-форме — 3 сутки наблюдения. Последующая динамика изменения B-лимфоцитов, экспрессирующих CD69<sup>+</sup>, у мышей 2 группы носила фазный характер — снижения этих клеток на 7 и 21 сутки наблюдения.

Бруцеллез является распространенным зоонозным заболеванием, вызываемым грамотрицательными бактериями *Brucella* spp. и представляющим серьезную проблему для здравоохранения. Основным фактором распространения инфекции является длительное выделение бруцелл при абортах и родах у больных животных, а также с молоком и мочой. В связи с неустойчивой эпизоотологической ситуацией по бруцеллезу крупного рогатого скота в регионах с развитым животноводством наиболее экономичным способом борьбы с бруцеллезом является вакцинация животных с целью минимизации потенциального риска инфицирования человека. В настоящее время для специфической профилактики бруцеллеза крупного рогатого скота на территории РФ могут применяться вакцины из штаммов *V. abortus* 19-ВА, *V. abortus* 17/100, *V. abortus* 82, *V. abortus* 75/79-А, а для вакцинопрофилактики населения РФ с целью поддержания эпидемиологического благополучия по бруцеллезу применяют живую лиофилизированную вакцину из штамма

*V. abortus* 19-ВА. Однако эти вакцины имеют множество недостатков, таких как поствакцинальные осложнения [10], потенциальная возможность вызывать аборт у беременных животных [4], остаточная контагиозность, влияние на диагностические тесты и другие. Кроме того, разработаны ДНК-вакцина, субъединичные, векторные и рекомбинантные вакцины [12], которые также имеют ряд недостатков, среди которых высокая стоимость, необходимость проведения многократной вакцинации, низкая иммуногенная активность. В связи с этим, разработка эффективной и безопасной вакцины для борьбы с бруцеллезом остается актуальной проблемой.

У людей данное заболевание приводит к развитию острого воспаления практически во все органах и часто сопровождается хронизацией инфекционного процесса. Известно, что для людей, больных бруцеллезом, характерно значительное изменение субпопуляционного состава клеток крови [8,11], что зависит от формы бру-



целлеза (хронический, резидуальный), от длительности заболевания и стажа работы [8]. Следует отметить, что одной из причин хронизации бруцеллезной инфекции является трансформация возбудителя бруцеллеза из S-формы в другие измененные варианты, наиболее значимым из которых является L-форма [4]. Бруцеллы в L-форме представляют собой бактерии полностью или частично утратившие клеточную оболочку, а также с существенными особенностями антигенной структуры. Нами было проведено иммунофенотипирование клеток крови мышей, иммунизированных термоэкстрактами *B. abortus* в L- и S-формах, с целью оценки их иммунологической эффективности.

В ходе исследования установлено, что введение экспериментальным животным ТЭ *B. abortus* в L- или S-форме приводило к увеличению процентного содержания гранулоцитов. В случае с ТЭ *B. abortus* в L-форме также отмечалось увеличением процентного содержания моноцитов в крови. Параллельно с этим отмечалось снижение числа моноцитов и гранулоцитов, экспрессирующих CD69, что, возможно, свидетельствует о миграции активированных клеток в очаг воспаления, мобилизации пристеночного пула клеток и формировании клеточного иммунного ответа. Повышение относительного содержания CD3<sup>+</sup>-, CD3<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>-, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>- и CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>-клеток в крови экспериментальных животных также свидетельствует о формировании клеточного иммунитета. Увеличение цитотоксически Т-лимфоцитов на последние сроки после введения ТЭ *B. abortus* в S-форме может быть связано с увеличением регуляторных CD8<sup>+</sup>-клеток, обладающих иммуносупрессивными функциями, способных эффективно блокировать иммунный ответ и поддерживать иммунный гомеостаз организма [15].

При воспалительных процессах, вызываемых как внеклеточными, так и внутриклеточными патогенами, важную роль играют гуморальный и клеточный иммунитет. Адекватное соотношение между ними способствует эффективной элиминации патогена. Для оценки гуморального иммунитета диагностическое значение имеет относительное количество В-лимфоцитов. Интересным является факт, что на первые сутки после введения ТЭ *B. abortus* в L-форме экспериментальным животным имело место увеличение CD19<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup> популяции клеток, что указывает на наличие Т-независимых антигенов в составе термоэкстракта. Кроме того, оба препарата приводили к снижению содержания В-лимфоцитов на поздних сроках течения воспалительного процесса. В случае ТЭ *B. abortus* в S-форме также имело место увеличение CD19<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>-клеток на 3 сутки наблюдения с последующим их снижением что, возможно, связано с перераспределением В-лимфоцитов и формированием гуморального иммунного ответа. Ранее в результате гистологического исследования нами было продемонстрировано увеличение интенсивности процесса пролиферации антителообразующих клеток в лимфатических узлах и селезенке, которая была более выражена у мышей, иммунизированных ТЭ *B. abortus* в S-форме.

Таким образом, проведенные исследования показали, что термоэкстракты *B. abortus* в L- или S-форме приводят к иммунологической перестройке организма экспериментальных животных, что согласуется с ранее полученными нами данными [7, 14]. Выявлены общие закономерности при введении исследуемых препаратов. Так, ТЭ *B. abortus* в L- и S-форме приводят к формированию иммунного ответа, который проявляется увеличением содержания гранулоцитов и экспрессии раннего маркера активации CD69 Т- и В-лимфоцитами крови на ранних сроках наблюдения (1-3 сутки), снижением общего содержания В-лимфоцитов на поздних сроках наблюдения. При этом у мышей, получивших ТЭ *B. abortus* в L-форме, показатели экспрессии CD69 субпопуляций лимфоцитов крови были достоверно выше, чем у мышей, получивших ТЭ *B. abortus* в S-форме. Кроме того, выявлены различия

в формировании гуморального иммунного ответа, что, возможно, связано с изменением химического состава бруцелл в процессе L-трансформации. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшего изучения вопросов иммунного ответа на TЭ В. abortus в L- или S-форме.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Атаходжаева Д.Р. Клинико-иммунологическая характеристика острого бруцеллеза у детей. Запорожский медицинский журнал. 2013, 6 (81): 6-9.
2. Балахонова С.В., Дубровина В.И., Токарева Л.Е., Загоскина Т.Ю., Витязева С.А., Марков Е.Ю., Старовойтова Т.П., Баранникова Н.Л., Коновалова Ж.А., Войткова В.В., Ястремская К.Ю. Бруцеллез: вопросы патогенеза и иммуногенеза. Иркутск, ООО «Принт-2», 2017.
3. 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.
4. Косилов И.А., Аракелян П.К., Димов С.К., Хлыстунов А.Г. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. Под. ред. И.А. Косилова. Новосибирск, 1999. Линева А.П. Физиологические показатели нормы животных. Справочник. М., «Аквариум» ФГУИППВ, 2003.
5. Линева А.П. Физиологические показатели нормы животных. Справочник. М., «Аквариум» ФГУИППВ, 2003
6. Медуницин Н.В. Вакцинология. 3-е изд., переработанное и дополненное. М.: «Триада-Х», 2010.
7. Михайлов Л.М., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И., Балахонов С.В. Изучение иммуногенных свойств термоэкстрактов из бруцелл в S- и L-формах на морских свинках. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016, 4(89): 82-86.
8. Пономарева О.Г., Тархов А.Е., Ерениев С.И., Сафонов А.Д., Соколова Т.Ф., Иванова Е.А. Показатели клеточного иммунитета у больных профессионально обусловленным хроническим и резидуальным бруцеллезом. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2010, 6: 25-30.
9. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Куличенко А.Н. Об эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2016 г. и прогноз на 2017 г. Пробл. особо опасных инф. 2017, 2: 23-27. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-23-27.
10. Цирельсон Л.Е., Желудков М.М., Кулаков Ю.К. Обзор проблем вакцинопрофилактики бруцеллеза. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2013, 3 (70): 77-81.
11. Ющук Н.Д., Ахмедова М.Д., Магомедова С.А. Т- и В-клеточный иммунитет у больных бруцеллезом. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. 2008, 3 (28): 90-92.
12. Dorneles E.M., Sriranganathan N., Lage A.P. Recent advances in Brucella abortus vaccines. Vet. Res. 2015, 46(1): 76. DOI: 10.1186/s13567-015-0199-7.
13. Dorneles E.M., Teixeira-Carvalho A., Aгаџо M.S. et al. Immune response triggered by Brucella abortus following infection or vaccination. Vaccine. 2015, 33 (31): 3659-66. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.05.057.
14. Dubrovina V.I., Balakhonov S.V., Yurieva O.V. et al. Effects of thermoextracts of Brucella S and L forms on lipid peroxidation and antioxidant defense in organs of laboratory animals. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2018, 165 (2): 239-242.
15. Yu Y., Ma X., Gong R. et al. Recent advances in CD8<sup>+</sup> regulatory T cell research. Oncol Lett. 2018, 15 (6): 8187-8194. doi: 10.3892/ol.2018.8378.

*Поступила 15.02.19*

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