

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

Перспективы использования термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в S- и L-формах в диагностике и профилактике бруцеллёза

Дубровина В.И., Юрьева О.В., Пятидесятникова А.Б., Старовойтова Т.П., Коновалова Ж.А., Баранникова Н.Л., Николаев В.Б., Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Актуальность. В настоящее время одним из актуальных направлений исследований является разработка новых антигенных препаратов для специфической диагностики и профилактики бруцеллёза, поскольку индикация возбудителя и профилактика заболевания осложняется способностью бруцелл к диссоциации, а используемые для специфической профилактики бруцеллёза живые вакцины обладают остаточной вирулентностью. В качестве таких перспективных антигенов могут быть использованы термоэкстракты (ТЭ), полученные из *Brucella abortus* И-206 в L- и S-форме. Известно, что ТЭ в L- и S-форме обладают иммуногенными свойствами, а также модулирующим действием на пролиферацию иммунокомпетентных клеток, морфологические изменения в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных.

Цель работы: изучение влияния термоэкстрактов *Brucella abortus* в L- и S-формах на функциональное состояние клеток экспериментальных животных.

Материалы и методы. Исследование проводили на 100 сертифицированных белых мышах. В качестве объектов исследования использовали ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-формах. Оценку влияния антигенных препаратов на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных в условиях *in vitro* проводили на перитонеальных макрофагах. Определяли суммарную активность ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте и супероксиддисмутазы. Контролем служили клетки интактных животных. В качестве положительного контроля использовали коммерческий антигенный препарат ЛПС *Escherichia coli*. Содержание циклических нуклеотидов в гомогенатах иммунокомпетентных органов определяли с помощью ИФА.

Результаты. В данном исследовании представлены материалы по изучению действия ТЭ на бактерицидную активность фагоцитов и уровень циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах. Установлено, что ТЭ активируют кислородзависимые бактерицидные системы фагоцитов. При изучении действия ТЭ на содержание циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах белых мышей выявлено увеличение их концентрации, свидетельствующее о повышении функциональной активности клеток.

Заключение. Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего детального исследования иммуногенных свойств ТЭ *B. abortus* в L- или S-форме на организм экспериментальных животных.

Ключевые слова: бруцеллез, антигены, иммунитет, фагоциты

Для цитирования: Дубровина В.И., Юрьева О.В., Пятидесятникова А.Б., Старовойтова Т.П., Коновалова Ж.А., Баранникова Н.Л., Николаев В.Б., Балахонов С.В. Перспективы использования термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в S- и L-формах в диагностике и профилактике бруцеллёза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 96-101. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

Prospects for the Use of Thermal Extracts of *Brucella abortus* I-206 in S-and L-Forms in the Diagnosis and Prevention of Brucellosis

Dubrovina V.I., Yuryeva O.V., Pyatidesyatnikova A.B., Starovoytova T.P., Konovalova Zh.A., Barannikova N.L., Nikolayev V.B., Balakhonov S.V.

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Currently, one of the topical areas of research is the development of new antigen preparations for the specific diagnosis and prevention of brucellosis, since indication of the pathogen and prevention of the disease is complicated by the ability of brucella to dissociate, and live vaccines used for specific prevention of brucellosis have residual virulence. Thermal extracts (TE) obtained from *Brucella abortus* I-206 in the L- and S-form can be used as such promising antigens. It is

known that TE in the L- and S-forms have immunogenic properties, as well as a modulating effect on the proliferation of immunocompetent cells, morphological changes in the immunocompetent organs of experimental animals.

The aim of the work is to study the effect of *Brucella abortus* thermal extracts in L- and S-forms on the functional state of the cells of experimental animals.

Materials and methods. The study was performed on 100 certified white mice. As objects of study, we used the *B. abortus* I-206 TE in L- and S-forms. Evaluation of the effect of antigenic drugs on the functional state of phagocytes of laboratory animals *in vitro* was performed on peritoneal macrophages. The total activity of the respiratory chain enzymes in the NBT-test and superoxide dismutase was determined. Cells of intact animals served as controls. As a positive control, a commercial antigenic LPS preparation *Escherichia coli* was used. The content of cyclic nucleotides in homogenates of immunocompetent organs was determined using ELISA.

Results. This study presents materials on the study of the effect of TE on the bactericidal activity of phagocytes and the level of cyclic nucleotides in immunocompetent organs. It has been established that TEs activate oxygen-dependent bactericidal systems of phagocytes. When studying the effect of TE on the content of cyclic nucleotides in immunocompetent organs of white mice, an increase in their concentration was revealed, indicating an increase in the functional activity of the cells.

Conclusion. The obtained data make it possible to substantiate the need for a further detailed study of the immunogenic properties of *B. abortus* TE in the L- or S-form on the organism of experimental animals.

Key words: brucellosis, antigens, immunity, phagocytes

For citation: Dubrovina V.I., Yuryeva O.V., Pyatidesyatnikova A.B., Starovoytova T.P., Konovalova Zh.A., Barannikova N.L., Nikolayev V.B., Balakhonov S.V. Prospects for the use of thermal extracts of *Brucella abortus* I-206 in S- and L-forms in the diagnosis and prevention of brucellosis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 96-101. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

ОБОСНОВАНИЕ

Разработка новых антигенных препаратов для специфической диагностики и профилактики бруцеллёза остаётся актуальной, поскольку индикация возбудителя и профилактика заболевания осложняется способностью бруцелл к диссоциации (полной замене антигенного спектра микроба или исчезновению клеточной стенки). А используемые для специфической профилактики бруцеллёза живые вакцины обладают остаточной вирулентностью и способны трансформироваться.

Важными этапами в развитии иммунного ответа являются поглощение и процессинг антигена макрофагом. Кроме того, макрофаги играют основную роль в борьбе с внутриклеточными патогенами, к которым относится возбудитель бруцеллёза. Стимуляция выработки промежуточных форм кислорода является важным индикативным показателем бактерицидной активности этого типа клеток иммунной системы, а способность нейтрализовать реактивные радикалы кислорода, используя в этих целях супероксиддисмутазу, может рассматриваться как защита самих фагоцитов от разрушения.

Все физиологические процессы, в том числе и иммуногенез, находятся под нейроэндокринным контролем. Ключевую роль в передаче и амплификации сигналов гормонов и нейромедиаторов, не способных проникать в клетку, играет система циклических нуклеотидов, которая участвует во многих физиологических процессах, в том числе иммунных. Антиген-индуцированные изменения в содержании циклических нуклеотидов (ЦН) некоторые исследователи используют в качестве интегрального показателя, позволяющего прогнозировать развитие иммунных и патологических процессов.

Накопление гуанозин-3,5-циклического монофосфата (ц-ГМФ) в клетках, в том числе и иммунных, как правило, связывают с пролиферацией, а аденозин 3,5-циклического монофосфата (ц-АМФ) – с дифференцировкой [1].

ЦН принимают участие в регуляции функционирования фагоцитирующих клеток, в том числе их поглотительной способности [2]. Вместе с тем показано, что ц-АМФ оказывает позитивный эффект на созревание и дифференцировку макрофагов, а также на их цитотоксическую активность [3], уровень которой связан с механизмами регуляции иммунологической реактивности [4].

Большой интерес в связи с этим представляет изучение иммуногенных и реактогенных свойств слабо-вирулентных бруцелл в L-форме, с целью возможного их использования для конструирования новых диагностических и вакцинных препаратов.

Цель работы – изучение влияния термоэкстрактов *Brucella abortus* в L- и S-формах на функциональное состояние клеток экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 100 сертифицированных белых мышах массой 15–20 г и 30 морских свинках (НПО «Вектор», Новосибирск), содержащихся в стандартных условиях.

В качестве объектов исследования использовали два препарата термоэкстрактов (ТЭ), полученных из штамма *B. abortus* И-206 в L- и S-формах.

Оценку влияния антигенных препаратов на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных в условиях *in vitro* проводили на перитонеальных макрофагах (ПМ). Фагоциты (2×10^7 /мл), полученные общепринятым методом [5], примировали ТЭ в дозе 1 мг/мл (по белку) в течение 30 мин при 37 °С с последующим определением суммарной активности ферментов дыхательной цепи (НСТ тест) [6] в нашей модификации и активности супероксиддисмутазы (СОД) [7]. Контролем служили клетки интактных животных. В качестве положительного контроля использовали коммерческий антигенный препарат ЛПС *Escherichia coli*.

Анализ полученных результатов осуществляли стандартными статистическими методами с использованием пакета программ (Stat Soft, USA) STATISTICA 6, Microsoft Excel 2003 и выражали как индекс стимуляции (ИС) в процентах (%) в виде средней арифметической из выборки (M), стандартного отклонения (s). Для переменных, имеющих распределение близкое к нормальному, применяли t-критерий параметрической статистики Стьюдента. Результаты считали достоверными, если вероятность ошибки не превышала 0,05 ($p < 0,05$) [8]. Эксперименты проводили в двух повторах.

Для выявления содержания циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах белых мышей подопытным животным подкожно вводили препараты

ТЭ *B. abortus* И-206 в S- (группа 1) и L-формах (группа 2) в ранее установленной иммунизирующей дозе 20 мкг по белку в 0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР) рН 7,2. Контролем служили белые мыши, получившие ЗФР в объёме 0,2 мл (группа 3). Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях ETS N 123 (Страсбург, 1986). Забор материала (гомогенаты тимуса и селезёнки) осуществляли на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки после иммунизации. Содержание циклических нуклеотидов в гомогенатах иммунокомпетентных органов определяли с помощью ИФА (тест наборов R&D SYSTEMS, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было установлено, что показатели абсолютного и относительного содержания лейкоцитов и их основных популяций (моноциты, гранулоциты, лимфоциты) у экспериментальных животных, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206, находились в пределах физиологической нормы. Вместе с тем, при анализе динамики содержания субпопуляций лимфоцитов отмечено повышение Т-лимфоцитов за счёт Т-хелперов на 3-и сутки и снижение В-лимфоцитов на 7-е сутки в среднем

в 1,5 раза по сравнению с группой мышей, иммунизированных *B. abortus* 19 ВА [9, 10].

При изучении влияния термоэкстрактов *B. abortus* И-206 в S- и L-формах на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных установлено, что ТЭ активируют кислородзависимые бактерицидные системы (КЗМ) ПМ. Так, индекс стимуляции ПМ, примированных ТЭ в S-форме фагоцитов, составлял $62,8 \pm 3,1 \%$, а в случае применения ТЭ в L-форме – $58,3 \pm 4,8 \%$, что в среднем в 1,7 раза больше, чем в контроле ($34,0 \pm 2,4 \%$). Вместе с тем, суммарная активность КЗМ фагоцитов, в частности ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте, показала, что различия сравниваемых величин (активация КЗМ фагоцитов ТЭ в S-форме и ТЭ в L-форме) статистически не были значимы ($p < 0,05$). Кроме того, при изучении функциональной активности антиоксидантной системы (АОС) в условиях *in vitro* статистически значимые различия между антигенными препаратами по степени воздействия на активность СОД также не зарегистрированы. Тем не менее, у фагоцитов, примированных ТЭ в S- и L-формах, выявлена тенденция к снижению активности СОД по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о накоплении токсических кислородных радикалов в клетках под действием ТЭ в исследуемой дозе в незначительных количествах.

Экспериментальные препараты ТЭ и инактивированная вакцина *B. abortus* 19 ВА по-разному влияли на

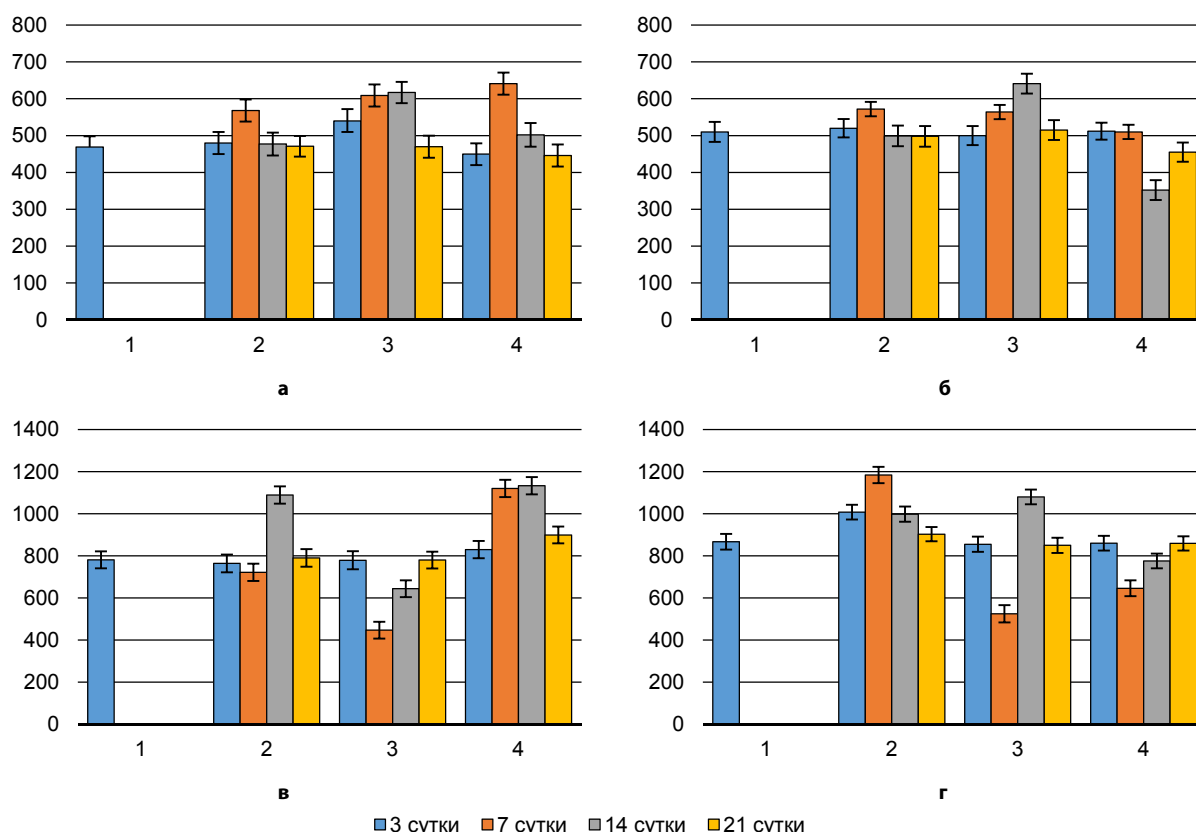


Рис. 1. Влияние термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 на содержание циклических нуклеотидов. **а** – содержание цГМФ в тимусе; **б** – содержание цГМФ в селезёнке; **в** – содержание цАМФ в тимусе; **г** – содержание цАМФ селезёнке. 1 – Контроль; 2 – S-форма; 3 – L-форма; 4 – *B. abortus* 19 ВА. По оси абсцисс обозначен срок наблюдения (сутки). По оси ординат обозначена концентрация циклических нуклеотидов (пмоль/г).

Fig. 1. Effect of thermal extracts of *B. abortus* I-206 on the content of cyclic nucleotides. **а** – the content of cGMP in the thymus; **б** – the content of cGMP in the spleen; **в** – the content of cAMP in the thymus; **г** – the content of cAMP in the spleen. 1 – Control; 2 – S-form; 3 – L-form; 4 – *B. abortus* 19 VA. The abscissa axis indicates the period of observation (day). The ordinate shows the concentration of cyclic nucleotides (pmole/g).

динамику содержания ЦН в иммунокомпетентных органах белых мышей (рис. 1).

На 3-и сутки после иммунизации содержание ЦН во всех вариантах не превышало или незначительно превышало контрольное значение. Иммунизация мышей ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме приводила к увеличению концентрации ц-ГМФ в тимусе на 7-е сутки и последующему снижению к 14-м суткам (рис. 1а). Подобная динамика соответствует представлению о роли ц-ГМФ в активации пролиферации. Действие ТЭ бруцелл в L-форме на накопление ЦН кардинально отличалось от действия на этот процесс ТЭ бруцелл в S-форме. В тимусе этой группы на 7-е сутки уровень ц-ГМФ, так же как в первом варианте, существенно повышался, но в отличие от него оставался на таком же высоком уровне и на 14-е сутки.

Руководствуясь сведениями о коррелятивной взаимосвязи накопления ц-ГМФ с активацией пролиферации, можно предположить, что высокий уровень посредника на 7-е и 14-е сутки в тимусе животных, привитых ТЭ, полученных из L-формы *B. abortus* И-206, свидетельствует о высокой пролиферативной активности на протяжении всего срока исследования.

Уровень ц-АМФ в тимусе указанной выше группы на 7-е сутки снижался по сравнению с контрольным значением, а к 14-м суткам возрастал (рис. 1в).

По данным ряда авторов, смещение равновесия ЦН в иммунокомпетентных органах в сторону ц-ГМФ свидетельствует об активации пролиферации, а в сторону ц-АМФ – об активации дифференцировки иммунных клеток.

По-видимому, повышение уровня ц-ГМФ в тимусе животных, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме, на 7-е сутки свидетельствует об активации пролиферации, а повышение уровня ц-АМФ на 14-е сутки – об активации созревания клеток. Вместе с тем, выявлены особенности в продолжительности и интенсивности плазмоцитарной реакции у животных, иммунизированных экспериментальными препаратами, которые свидетельствуют о более выраженной пролиферации антителообразующих клеток при введении ТЭ в S-форме [9]. О разнонаправленном действии экстрактов бруцелл в S- и L-формах также свидетельствуют результаты исследований активности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Так, ТЭ в L-форме в меньшей степени, чем ТЭ в S-форме влиял на накопление малонового диальдегида, свидетельствующее об его незначительной реактогенности, связанной с наличием в ТЭ в составе S-форме липополисахарида [11].

В селезёнке мышей, привитых ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме (группа 1) обнаружена схожая с тимусом динамика содержания ц-ГМФ (рис. 1б). В группе 2 на 7-е сутки уровень ц-ГМФ оставался в пределах контрольного значения, но на 14-е сутки он достоверно возрастал, в отличие от группы 1, где максимальная концентрация ц-ГМФ была определена в более ранний срок. Вероятно, в селезёнке препарат *B. abortus* И-206 в L-форме активировал пролиферацию в более поздние сроки, чем ТЭ в S-форме.

Наряду со стимулирующим действием на накопление ц-ГМФ в тимусе, ТЭ в L-форме оказывал ингибирующее действие на накопление ц-АМФ в органе (рис. 1г). В отличие от тимуса, уровень ц-АМФ в селезёнке повышался не на 14-е, а на 7-е сутки. Возможно, повышение концентрации ц-АМФ в селезёнке экспериментальных животных группы 2 на 7-е сутки связано с более ранней

реакцией органа на препарат. Обнаруженный эффект, на наш взгляд, связан с низкой активностью процессов, определяющих созревание и дифференцировку клеток в изученный период вакцинального процесса. Кроме того, проведённое нами морфологическое исследование надпочечников и сравнительный анализ периферической крови белых мышей, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-форме, показал, что термоэкстракты *B. abortus* И-206 в S- и L-формах не вызывают алергизацию организма и развитие поствакцинальных осложнений у экспериментальных животных [10].

На основании полученных данных, изменение соотношения ц-ГМФ и ц-АМФ в динамике вакцинального процесса играет прогностическую роль и может рассматриваться в качестве интегрального показателя иммунного статуса.

Таким образом, выявленный в ходе исследования фазовый характер изменения уровня ЦН в процессе иммуногенеза свидетельствует об их участии не только в активации, но и в регуляции иммунореактивности организма экспериментальных животных. Вместе с тем, однозначную интерпретацию описанных выше феноменов можно сделать только после более детального исследования, включающего изучение динамики медиаторов широкого спектра. Кроме того, важно учитывать возможность патологических реакций, в развитии которых тоже может принимать участие система ЦН как эндогенной, так и экзогенной происхождения.

О возможности применения ТЭ для идентификации и дифференциации возбудителя бруцеллёза могут свидетельствовать данные о получении высокоактивных и специфических кроличьих сывороток к ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-формах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённых экспериментов отмечена тенденция активирующего воздействия на иммунные процессы термоэкстрактов *B. abortus* И-206.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования воздействия ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-форме на организм экспериментальных животных.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ogunniyi AD, Paton JC, Kirby AC, McCullers JA, Cook J, Hyodo M, et al. C-di-GMP is an effective immunomodulator and vaccine adjuvant against pneumococcal infection. *Vaccine*. 2008; 26(36): 4676-4685. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.099
2. Лебедев О.Е., Крутецкая З.И., Крутецкая Н.И. Роль аденилатциклазной системы в регуляции Ca²⁺-сигналов, индуцированных пуринергическими агонистами ингибиторами эндоплазматических Ca-АТФаз, в перитонеальных макрофагах крысы. Матер. // съезда биофизиков России. М.; 1999.
3. Kanda N, Watanabe S. Intracellular 3',5'-ad-enosine cyclic monophosphate level regulates house dust mite-induced interleukin-13 production by T-cells from mite-sensitive patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol*. 2001; 116: 3-11. doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01196.x

4. Schmitt CK, Meysick KC, O'Brien AD. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerging infectious diseases*. 1999; 5(2): 224-234. doi: 10.3201/eid0502.990206

5. Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека. Л.; 1986.

6. Нарциссов Р.П. Применение р-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека. Архив анатомии и гистологии. 1969; (5): 85-91.

7. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении. Лабораторное дело. 1991; (7): 16-19.

8. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976.

9. Михайлов Л.М., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И. и др. Изучение иммуногенных свойств термоэкстрактов из бруцелл в S- и L-формах на морских свинках. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 4(89): 82-86. doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-4-82-86

10. Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Витязева С.А., Баранникова Н.Л., Иванова Т.А., Шкаруба Т.Т. и др. Влияние термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в L- и S-форме на морфофункциональное состояние надпочечников белых мышей. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 4(3): 109-113. doi.org/10.29413/ABS.2018-3.4.15

11. Дубровина В.И., Балахонов С.В., Юрьева О.В., Старовойтова Т.П., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е. и др. Влияние термоэкстрактов бруцелл S- и L-форм на активность перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в органах лабораторных животных. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 165(2): 202-206.

12. Михайлов Л.М., Андреевская Н.М., Михайлова В.А., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Ястремская К.Ю. и др. Получение гипериммунных сывороток к термоэкстрактам из бруцелл в S- и L-формах. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; (4): 98-101. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101

REFERENCES

1. Ogunniyi AD, Paton JC, Kirby AC, McCullers JA, Cook J, Hyodo M, et al. C-di-GMP is an effective immunomodulator and vaccine adjuvant against pneumococcal infection. *Vaccine*. 2008; 26(36): 4676-4685. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.099

2. Lebedev OE, Krutetskaya ZI, Krutetskaya NI. The role of the adenylate cyclase system in the regulation of Ca²⁺ signals induced by adrenergic agonists with endoplasmic CA-ATPase inhibitors in rat peritoneal macrophages. *Mater. II sjezda biofizikov Rossii*. Moscow; 1999. (In Russ.)

3. Kanda N, Watanabe S. Intracellular 3',5'-ad-enosine cyclic monophosphate level regulates house dust mite-induced interleukin-13 production by T-cells from mite-sensitive patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 2001; 116: 3-11. doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01196.x

4. Schmitt CK, Meysick KC, O'Brien AD. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerging infectious diseases*. 1999; 5(2): 224-234. doi: 10.3201/eid0502.990206

5. Freydlin IS. *Methods of studying phagocytic cells in the evaluation of human immune status*. Leningrad; 1986. (In Russ.)

6. Narcisso RP. The use of R-nitrotetrazolio purple for the quantitative cytochemistry of dehydrogenases in lymphocytes. *Arhiv anatomii i gistologii*. 1969; (5): 85-91. (In Russ.)

7. Matyushin BN, Loginov AS, Tkachev VD. Determination of superoxide dismutase activity in the material of liver puncture biopsy in its chronic lesion. *Laboratornoe delo*. 1991; (7): 16-19 (In Russ.)

8. Zaks L. *Statistical estimation*. M.: Statistika; 1976. (In Russ.)

9. Mikhaylov LM, Barannikova NL, Tokareva LE, Vityazeva SA, Starovoytova TP, Dubrovina VI, et al. Study of immunogenic properties of thermoextracts from *Brucella* in S- and L-forms on guinea pigs. *Jepidemiologija i vakcinoprofilaktika*. 2016; 4(89): 82-86. doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-4-82-86 (In Russ.)

10. Dubrovina VI, Starovoytova TP, Vityazeva SA, Barannikova NL, Ivanova TA, Shkaruba TT, et al. Influence of thermal extracts of *Brucella abortus* And-206 in L- and S-form on the morphological and functional state of the adrenal glands of white mice. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 4(3): 109-113. doi.org/10.29413/ABS.2018-3.4.15 (In Russ.)

11. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Yuryeva OV, Starovoytova TP, Barannikova NL, Tokareva LE, et al. Effect of thermal extracts of brucell S and L forms on the activity of lipid peroxidation and antioxidant protection in the organs of laboratory animals. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2018; 2(165): 202-206. (In Russ.)

12. Mikhaylov LM, Andreevskaya NM, Mikhaylova VA, Barannikova NL, Tokareva LE, Yastremskaya KYu, et al. Preparation of hyperimmune sera to thermal extract from *Brucella* in S- and L-forms. *Problemy osobo opasnyh infekcij*. 2016; (4): 98-101. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101 (In Russ.)

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Юрьева Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Пятидесятникова Анна Борисовна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Коновалова Жанна Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения обеспечения качества ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: konovalova-shanna@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4217-9171>

Баранникова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, врач-бактериолог отдела эпидемиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5471-2164>

Николаев Валерий Борисович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник биохимического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Olga V. Yuryeva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Laboratory Assistant at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Tatyana P. Starovoytova – Research Officer at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Zhanna A. Konovalova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at Quality Assurance Department of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: konovalova-shanna@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4217-9171>

Natalia L. Barannikova – Cand. Sc. (Biol.), Bacteriologist at the Department of Epidemiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5471-2164>

Valery B. Nikolayev – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer of Department of Biochemistry, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Информация о вкладе авторов:

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Юрьева О.В. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Пятидесятникова А.Б. – постановка реакций, учёт результатов

Старовойтова Т.П. – проведение экспериментов, анализ полученных результатов

Коновалова Ж.А. – анализ результатов, написание аннотации статьи

Баранникова Н.Л. – получение экспериментальных препаратов

Николаев В.Б. – получение и характеристика физико-химических свойств экспериментальных препаратов

Балахонов С.В. – планирование научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов

Статья получена: 18.02.2019. Статья принята: 22.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 18.02.2019. Accepted: 22.04.2019. Published: 26.06.2019.