

Стерилизация препаратов бактериальных теней *Yersinia pestis*

Е.М.Мазурина, Е.А.Бурмистров, Н.Ю.Буданова, А.С.Вагайская, А.С.Трунякова, Т.И.Комбарова, С.А.Иванов, И.А.Дунайцев, С.В.Дентовская, А.П.Анисимов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактериальные тени (БТ) – это клеточные оболочки, полученные из грамотрицательных бактерий, лишенные всего цитоплазматического содержимого, но имеющие сохраненную клеточную морфологию, включая все структуры клеточной поверхности. При использовании в качестве средств доставки субъединичных или ДНК-вакцин структура частиц и свойства поверхности БТ нацеливают сам носитель на первичные антигенпрезентирующие клетки. Кроме того, БТ проявляют присущие им адъювантные свойства и запускают усиленный гуморальный и клеточный иммунный ответ на антиген-мишень. При масштабировании процесса производства БТ, используемых в качестве компонента кандидатной инактивированной чумной вакцины, необходимо обеспечить полное отсутствие живых клеток аттенуированного штамма *Yersinia pestis* KM 260(12) Δ pxM/pEYR-E-Y-K в препарате. В процессе стерилизации использовали стрептомицин или мертиолят натрия. Стрептомицин-содержащий препарат обладал выраженной токсичностью в отношении морских свинок, часть которых погибла после иммунизации. Вариант кандидатной вакцины, стерилизованный мертиолятом натрия, не вызывал гибели животных, они стабильно набирали вес после иммунизации, а индекс иммунитета составил $1,1 \cdot 10^5$.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, чума, вакцина, стерилизация, токсичность антибиотиков, стрептомицин, мертиолят натрия, морская свинка

Для цитирования: Мазурина Е.М., Бурмистров Е.А., Буданова Н.Ю., Вагайская А.С., Трунякова А.С., Комбарова Т.И., Иванов С.А., Дунайцев И.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Стерилизация препаратов бактериальных теней *Yersinia pestis*. Бактериология. 2023; 8(3): 36–40. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-36-40

Sterilization of *Yersinia pestis* bacterial ghost preparations

Е.М.Mazurina, Е.А.Burmistrov, N.Yu.Budanova, A.S.Vagaiskaya, A.S.Trunyakova, T.I.Kombarova, S.A.Ivanov, I.A.Dunaytsev, S.V.Dentovskaya, A.P.Anisimov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

BGs are cell envelopes derived from Gram-negative bacteria, devoid of all cytoplasmic contents, but having preserved cellular morphology, including all structures of the cell surface. Using BGs as delivery vehicles for subunit or DNA vaccines, BGs are targeting the carrier itself to primary antigen-presenting cells. In addition, BG exhibit their inherent adjuvant properties and trigger an enhanced humoral and cellular immune response to the target antigen. When scaling up the production process of bacterial ghosts used as a component of a candidate inactivated plague vaccine, it is necessary to ensure the complete absence of living cells of the attenuated strain of *Yersinia pestis* KM260(12) Δ pxM/pEYR-E-Y-K in the preparation. In the process of sterilization streptomycin or sodium merthiolate were used. The streptomycin-containing preparation was severely toxic to guinea pigs, some of which died after immunization. The variant of the candidate vaccine, sterilized with thimerosal, did not cause death in the animals; they steadily gained weight after immunization, and the immunity index was $1.1 \cdot 10^5$.

Key words: *Yersinia pestis*, plague, vaccine, sterilization, antibiotic toxicity, streptomycin, thimerosal, guinea pig

For citation: Mazurina E.M., Burmistrov E.A., Budanova N.Yu., Vagaiskaya A.S., Trunyakova A.S., Kombarova T.I., Ivanov S.A., Dunaytsev I.A., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Sterilization of *Yersinia pestis* bacterial ghost preparations. Bacteriology. 2023; 8(3): 36–40. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-36-40

Для корреспонденции:

Мазурина Елизавета Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0117

Статья поступила 01.08.2023, принята к печати 29.09.2023

For correspondence:

Elizaveta M. Mazurina, Junior Researcher of laboratory for plague microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0117

The article was received 01.08.2023, accepted for publication 29.09.2023

Одними из первых препаратов, разработанных для иммунопрофилактики инфекционных заболеваний бактериальной природы, были инактивированные вакцины [1]. Обязательным этапом получения не способных вызвать инфекционное заболевание инактивированных (убитых) вакцин является полное обезвреживание бактерий с максимальным сохранением их иммуногенных свойств. Однако инаktivация бактерий с помощью физических или химических воздействий ведет к в той или иной степени разрушения бактериальных клеток и денатурации бактериальных белков, сопровождающихся, как правило, снижением иммуногенности или даже полной утратой антигенности. Так, снижают или полностью утрачивают свою антигенность белки, коагулированные кипячением, обработкой крепкими растворами кислот или щелочей [2–5]. Для решения этой проблемы в конце прошлого века была предложена технология «бактериальных теней (призраков)». Бактериальные тени (БТ) – это пустые оболочки клеток грамотрицательных бактерий, лишенные цитоплазматического содержимого, но сохраняющие неизменными все морфологические и структурные особенности клеточной поверхности их живых предшественников. БТ образуются в результате лизиса грамотрицательных бактерий, опосредованного белком E фага ϕ X174. Эндогенная экспрессия гена E приводит к образованию туннельной структуры через внутреннюю и внешнюю бактериальные мембраны. Высокое осмотическое давление внутри клетки ведет к вытеснению цитоплазматического содержимого в окружающую среду, что приводит к образованию бактериальных призраков [6].

Экспрессия белка E не обязательно убивает все бактерии, но один из критериев качества бактериальнотеневых вакцин предусматривает в препарате, прошедшем индукцию синтеза белка E, отсутствие перед лиофилизацией живых бактериальных клеток. Оставшиеся живые бактерии должны быть инактивированы [7]. Введение в геном продуцентов бактериальных призраков генов дополнительных систем фагового лизиса, состоящих из холина, эндолизина и спанинов, вело к дальнейшему снижению числа жизнеспособных клеток [8]. Совместно с литическими белками часто используют неспецифическую нуклеазу из *Staphylococcus aureus*, которая гидролизует нуклеиновые кислоты, что одновременно убивает не подвергшиеся лизису бактериальные клетки, предотвращает перенос генетического материала патогена и снижает вязкость препарата теней [9]. И, наконец, для снижения числа живых бактерий также используют бактерицидные антибиотики [10] и β -пропиолактон [7].

Ранее в лабораторных условиях мы получили препараты БТ чумного микроба [11] для создания кандидатной чумной трехкомпонентной вакцины.

Цель настоящей работы состояла в подборе оптимального метода стерилизации на этапе масштабирования процесса наработки кандидатной чумной трехкомпонентной вакцины, состоящей из препарата БТ аттенуированного штамма *Yersinia pestis* KM 260(12) Δ lpxM/pEYR-E-Y-K и иммунодоминантных антигенов чумного микроба – капсульного антигена F1 (Caf1) и V антигена (LcrV).

Материалы и методы

Штаммы бактерий. Для получения БТ, антигенов V и F1 использовали штаммы-продуценты *Y. pestis* KM260(12)

Δ lpxM/pEYR'-E-Y-K, *Escherichia coli* BL21/pETV-I-3455 и *Yersinia pseudotuberculosis* 11M/pPKB-F1 соответственно.

Лабораторные животные. С полученными из филиала «Апрелевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России морскими свинками весом 275 ± 25 г обращались в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Протоколы экспериментов с животными одобрены комитетом по биоэтике ФБУН ГНЦ ПМБ (ВП-2021/4).

Биохимические методы. LcrV выделяли из бульонной культуры штамма *E. coli* BL21/pETV-I-3455 и очищали с последовательным использованием гель-фильтрации, анионообменной хроматографии (DEAE TSK 650M) и гидрофобной хроматографии [12].

Секретируемый капсульный антиген выделяли из надосадочной фракции бульонной культуры штамма *Y. pseudotuberculosis* 11M/pFSK 3/9 путем ее фракционирования сульфатом аммония с последующей хроматографической очисткой (MP 4.2.0219 – 20 «Выделение и очистка F1 антигена чумного микроба»).

Препаративное получение бактериальных теней. БТ штамма *Y. pestis* KM260(12) Δ lpxM/pEYR'-E-Y-K получали методом глубинного культивирования в ферментере с рабочим объемом 10 л в жидкой обогащенной питательной среде при уровне аэрации и перемешивания для обеспечения массообмена не ниже 20% от насыщения по O_2 . При достижении бактериальной культурой оптической плотности (ОП) $\geq 2,0$ ед. запускали лизис клеток путем подъема температуры до $42,0^\circ\text{C}$. После завершения лизиса культуру биомассу отделяли путем центрифугирования при 11 000 г в течение 15 мин. Стерильности препарата БТ достигали двумя способами. В первом из них биомассу выдерживали в водном растворе стрептомицина (100 мкг/мл) в течение 10 мин [10] с последующей трехкратной отмывкой холодной (4°C) дистиллированной водой. Во втором после трехкратной отмывки холодной (4°C) дистиллированной водой сырую биомассу ресуспендировали в дистиллированной воде с добавлением мертиолята натрия (0,2 мг/л) и инкубировали 16 ч при температуре $2-8^\circ\text{C}$. Контроль стерильности проводили методом прямого посева по ГФ XII, часть 1, стр. 125.

Смешивание препарата ВЧТК и лиофилизация

К водной суспензии БТ добавляли фосфатный буфер, поливинилпирролидон (25 000 кДа), рекомбинантные F1 и V антигены чумного микроба. Конечная концентрация БТ составляла 10^{12} м.к./л, фосфатного буфера 10 г/л, поливинилпирролидона 10 г/л, антигена F1 100 мг/л, V антигена 100 мг/л. Суспензию разливали по 1 мл во флаконы. Лиофилизацию проводили в сушилке VirTis (США) при остаточном давлении 80 мТор и температуре конденсора -70°C в течение 24 ч. Остаточная влажность не превышала 5%.

Определение присутствия антибиотиков. Для определения наличия остаточных количеств стрептомицина высушенный препарат БТ ресуспендировали в 1 мл дистиллированной воды и инкубировали 24 ч при температуре 8°C . После осаждения БТ путем центрифугирования электрофоретическое определение антибиотика в супернатанте проводили с использованием системы высокоэффективного капиллярного электрофореза «Капель-105М» («Люмэкс»,

Россия) со спектрофотометрическим детектором в кварцевом капилляре с внешним полиимидным покрытием при использовании термостатирования капилляра.

Иммунологические методы. Для оценки титров антител к рекомбинантным белкам и препарату БТ *Y. pestis* в сыворотках иммунных морских свинок использовали метод твердофазного иммуоферментного анализа [13].

Напряженность иммунитета, т.е. способность вакцинального препарата предохранять животное от гибели при заражении массивными дозами вирулентной культуры, определяли по формуле:

$$ИИ = ЛД_{50Имм} / ЛД_{50Инт},$$

где $ЛД_{50}$ – средняя летальная доза; $ЛД_{50Имм}$ – это $ЛД_{50}$ для животных, иммунизированных исследуемым антигеном; $ЛД_{50Инт}$ – это $ЛД_{50}$ для интактных (неиммунизированных) животных.

Морских свинок иммунизировали подкожно двукратно с интервалом в 2 нед. в область верхней трети правого бедра тестируемым кандидатным препаратом (F1 – 10 мкг, V – 10 мкг, БТ – $2 \cdot 10^8$ м.к.) в объеме 0,5 мл. В качестве отрицательного контроля (плацебо) использовали группу животных, получивших только раствор PBS. На 30-е сутки после первой иммунизации животных заражали подкожно серийными 10-кратными разведениями двухдневной агаровой культуры штамма *Y. pestis* 231 дикого типа, выращенной при температуре 28°C (три животных на дозу). Наблюдение за зараженными животными продолжали в течение 21 суток. Погибших животных вскрывали и исследовали бактериологическим методом.

Статистические методы. Статистический анализ проводили, используя Graph Pad Prism 6 (GraphPad Software, США). $ЛД_{50}$ и 95%-е доверительные интервалы вирулентного штамма для иммунизированных и неиммунизированных животных рассчитывали с использованием метода Кербера [14].

Результаты исследования и их обсуждение

Общую реакцию организма морских свинок на введение препаратов стрептомицина и мертиолята натрия оценивали по изменению веса животных, внешнему виду (состояние шерсти, слизистых оболочек носа и глаз), поведению животных (двигательная активность, поедание корма). На протяжении двух иммунизаций ежедневно производили измерение веса животных во всех экспериментальных и в контрольной группе. Согласно полученным результатам, в группах животных, получивших препараты с мертиолятом натрия или PBS, отмечали увеличение веса начиная с первых суток после введения вплоть до момента их заражения. На протяжении всего времени эксперимента животные не теряли интерес к корму, были активны и имели удовлетворительный внешний вид. При ежедневном ветеринарном осмотре после вакцинации не были выявлены никакие местные воспалительные реакции (отек, гиперемия, некроз и т.д.) в месте введения препаратов. Все это свидетельствует об отсутствии токсичности для организма экспериментальных животных.

У двух морских свинок после иммунизации препаратом ВЧТК, содержащим БТ, стерилизованные стрептомицином, отмечали снижение массы тела, возникшее на 10–11-е сутки

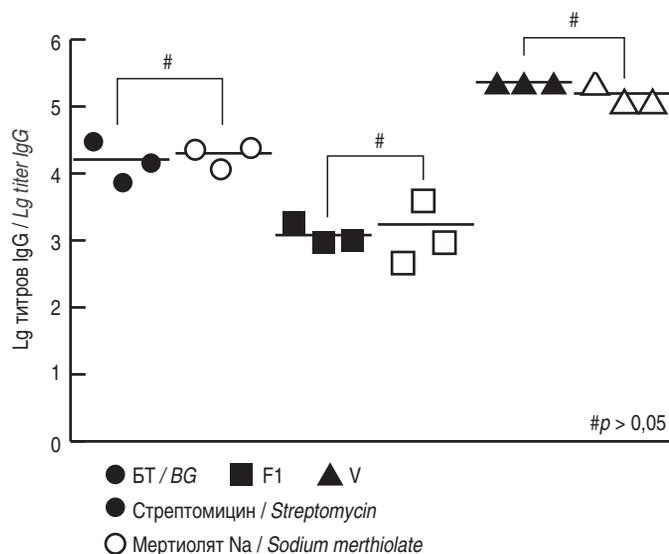


Рисунок. Средние реципрокные титры IgG после иммунизации прототипами чумной трехкомпонентной вакцины.
 Figure. Average reciprocal IgG titers after immunization with three-component plague vaccine prototypes.

после первой иммунизации и прогрессирующее после второй иммунизации вплоть до гибели на 5-е и 12-е сутки. У павших животных отмечали истощение – падение веса до 130 г в течение 2 нед., кровотечение из мочеиспускательного канала, паралич задних конечностей. При патологоанатомическом осмотре – некроз почек, увеличение надпочечников, вздутие кишечника. Остальные свинки данной группы имели удовлетворительный внешний вид и набирали вес до момента заражения.

Подкожное введение обоих препаратов ВЧТК стимулировало продукцию антител у лабораторных животных. Отмечали увеличение титров специфических IgG-антител к БТ, F1 и V антигенам после второй иммунизации у морских свинок (рисунок). Отличия между группами, иммунизированными препаратами, стерилизованными стрептомицином или мертиолятом натрия, были не достоверны ($p > 0,05$).

При определении напряженности иммунитета, индуцированного введением препаратов ВЧТК, неиммунные морские свинки контрольной группы, зараженные *Y. pestis* 231, пали к 10-м суткам наблюдения. Величина $ЛД_{50}$ вирулентного штамма *Y. pestis* 231 для морских свинок, иммунизированных препаратами ВЧТК (таблица), достоверно отличалась от $ЛД_{50}$ для контрольной группы животных ($p < 0,001$). Индекс иммунитета для препарата после обработки мертиолятом натрия на три порядка превосходил аналогичный показатель для препарата после стерилизации стрептомицином.

Таблица. Иммунологическая активность препаратов Table. Immunological activity of preparations			
Препарат / Preparation	$ЛД_{50}$ <i>Y. pestis</i> 231, КОЕ / LD_{50} <i>Y. pestis</i> 231, CFU	Индекс иммунитета / Immunity Index	
ВЧТК / three-component plague vaccine	Мертиолят Na / Sodium merthiolate	$>3,2 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^5$
	Стрептомицин / Streptomycin	$6,8 \cdot 10^2$ (171–2712)	$2,2 \cdot 10^2$
PBS	3 (1–13)	1	

Было высказано предположение о неэффективности отмывки препарата БТ от стрептомицина. Определение наличия в препаратах антибиотика проводили с помощью капиллярного электрофореза, который применяют для решения разных аналитических задач благодаря высокой эффективности разделения, воспроизводимости метода, низкому расходу реагентов, возможности быстро регенерировать капилляр в случае анализа объектов со сложной, например биологической, матрицей. Количественное определение стрептомицина выполняли методом добавок. Содержание стрептомицина после отмывки дистиллированной водой и лиофилизации составило 146 мкг/флакон (14,6 мкг/животное).

Принято считать, что основным механизмом токсичности антибиотиков у грызунов являются вторичные эффекты нарушения нормальной кишечной флоры. У морских свинок специфической причиной смерти часто являются токсины TcdA и TcdB, продуцируемые размножившимися на фоне дисбактериоза бактериями *Clostridium difficile*. Введение морским свинкам ауреомицина вело к бурному росту бактерий *Listeria monocytogenes*, а затем к септицемии и некротическим поражениям органов [15].

С учетом этих данных логично предположить, что и в наших экспериментах гибель животных была связана с присутствием в кандидатной вакцине следовых количеств стрептомицина, использованного для уничтожения потенциально оставшихся жизнеспособными бактерий.

Замена стрептомицина на мертиолят натрия (этил ртути), который входит в состав многих вакцин в качестве консерванта, либо как стерилизующий агент на отдельных стадиях технологического процесса, либо как стабилизатор антигенов в процессе очистки [16], сопровождалась исчезновением токсичности препарата ВЧТК. Новый вариант кандидатной вакцины не вызывал гибели животных, они стабильно набирали вес после иммунизации, а индекс иммунитета составил $1,1 \cdot 10^5$.

Информация о финансировании

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2019-1671 от 31.10.2019).

Financial support

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No 075-15-2019-1671 dated 10/31/2019).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: how the past led to the future. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(12):889-93. DOI: 10.1038/nrmicro2668
2. Bogahawaththa D, Chandrapala J, Vasiljevic T. Thermal denaturation of bovine β -lactoglobulin in different protein mixtures in relation to antigenicity. *International Dairy Journal.* 2019;91:89-97.

3. Kriegshäuser G, Kuechler E, Skern T. Aggregation-associated loss of antigenicity observed for denatured virion protein 1 of Equine rhinitis A virus in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Virus Res.* 2009;143(1):130-3. DOI: 10.1016/j.virusres.2009.03.003
4. Sassi ML, Eriksen H, Risteli L, Niemi S, Mansell J, Gowen M, et al. Immunochemical characterization of assay for carboxyterminal telopeptide of human type I collagen: loss of antigenicity by treatment with cathepsin K. *Bone.* 2000;26(4):367-73. DOI: 10.1016/S8756-3282(00)00235-0
5. Johnson LR, Wormall A. The immunological properties of alkali-treated proteins. *Biochem J.* 1932;26(4):1202-13. DOI: 10.1042/bj0261202
6. Doan D, Thanh T, Xuan H. Study of chemical-based induced bacterial ghost applied in vaccine production. *Engineering & Technology.* 2020;10(1):17-28.
7. Langemann T, Koller VJ, Muhammad A, Kudela P, Mayr UB, Lubitz W. The Bacterial Ghost platform system: production and applications. *Bioeng Bugs.* 2010;1(5):326-36. DOI: 10.4161/bbug.1.5.12540
8. Won G, Hajam IA, Lee JH. Improved lysis efficiency and immunogenicity of *Salmonella* ghosts mediated by co-expression of λ phage holin-endolysin and ϕ X174 gene E. *Sci Rep.* 2017;7:45139. DOI: 10.1038/srep45139
9. Fu L, Lu C. A novel dual vector coexpressing Φ X174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene on the basis of lambda promoter pR and pL, respectively. *Mol Biotechnol.* 2013;54(2):436-44. DOI: 10.1007/s12033-012-9581-0
10. Cai K, Zhang Y, Yang B, Chen S. *Yersinia enterocolitica* ghost with msbB mutation provides protection and reduces proinflammatory cytokines in mice. *Vaccine.* 2013;31(2):334-40. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.004
11. Dentovskaya SV, Vagaikaya AS, Platonov ME, Trunyakova AS, Kotov SA, Krasil'nikova EA, et al. Peptidoglycan-free bacterial ghosts confer enhanced protection against *Yersinia pestis* infection. *Vaccines (Basel).* 2021;10(1):51. DOI: 10.3390/vaccines10010051
12. Копылов ПХ, Светоч ТЭ, Иванов СА, Комбарова ТИ, Перовская ОН, Титарева ГМ, и др. Особенности хроматографической очистки и протективности изоформ LcrV *Yersinia pestis*. *Прикладная биохимия и микробиология.* 2019;55(5):471-480. DOI: 10.1134/S0555109919040081
13. Егоров АМ, Осипов АП, Дзантиев ББ, Гаврилова ЕМ. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк., 1991.
14. Finney DJ. Statistical method in biological assay. Charles Griffin & Company, 1978.
15. Morris TH. Antibiotic therapeutics in laboratory animals. *Lab Anim.* 1995;29(1):16-36. DOI: 10.1258/002367795780740393
16. Dórea JG. Low-dose Thimerosal (ethyl-mercury) is still used in infants' vaccines: Should we be concerned with this form of exposure? *J Trace Elem Med Biol.* 2018;49:134-139. DOI: 10.1016/j.jtemb.2018.05.010

References

1. Plotkin SA, Plotkin SL. The development of vaccines: how the past led to the future. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(12):889-93. DOI: 10.1038/nrmicro2668
2. Bogahawaththa D, Chandrapala J, Vasiljevic T. Thermal denaturation of bovine β -lactoglobulin in different protein mixtures in relation to antigenicity. *International Dairy Journal.* 2019;91:89-97.
3. Kriegshäuser G, Kuechler E, Skern T. Aggregation-associated loss of antigenicity observed for denatured virion protein 1 of Equine rhinitis A virus in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Virus Res.* 2009;143(1):130-3. DOI: 10.1016/j.virusres.2009.03.003
4. Sassi ML, Eriksen H, Risteli L, Niemi S, Mansell J, Gowen M, et al. Immunochemical characterization of assay for carboxyterminal telopeptide of human type I collagen: loss of antigenicity by treatment with cathepsin K. *Bone.* 2000;26(4):367-73. DOI: 10.1016/S8756-3282(00)00235-0
5. Johnson LR, Wormall A. The immunological properties of alkali-treated proteins. *Biochem J.* 1932;26(4):1202-13. DOI: 10.1042/bj0261202

- Doan D, Thanh T, Xuan H. Study of chemical-based induced bacterial ghost applied in vaccine production. *Engineering & Technology*. 2020;10(1):17-28.
- Langemann T, Koller VJ, Muhammad A, Kudela P, Mayr UB, Lubitz W. The Bacterial Ghost platform system: production and applications. *Bioeng Bugs*. 2010;1(5):326-36. DOI: 10.4161/bbug.1.5.12540
- Won G, Hajam IA, Lee JH. Improved lysis efficiency and immunogenicity of *Salmonella* ghosts mediated by co-expression of λ phage holin-endolysin and ϕ X174 gene E. *Sci Rep*. 2017;7:45139. DOI: 10.1038/srep45139
- Fu L, Lu C. A novel dual vector coexpressing ϕ X174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene on the basis of lambda promoter pR and pL, respectively. *Mol Biotechnol*. 2013;54(2):436-44. DOI: 10.1007/s12033-012-9581-0
- Cai K, Zhang Y, Yang B, Chen S. *Yersinia enterocolitica* ghost with msbB mutation provides protection and reduces proinflammatory cytokines in mice. *Vaccine*. 2013;31(2):334-40. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.11.004
- Dentovskaya SV, Vagaiskaya AS, Platonov ME, Trunyakova AS, Kotov SA, Krasil'nikova EA, et al. Peptidoglycan-free bacterial ghosts confer enhanced protection against *Yersinia pestis* infection. *Vaccines (Basel)*. 2021;10(1):51. DOI: 10.3390/vaccines10010051
- Kopylov PK, Svetoch TE, Ivanov SA, Kombarova TI, Perovskaya ON, Titareva GM, et al. Characteristics of the chromatographic cleaning and protectiveness of the LcrV isoform of *Yersinia pestis*. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2019;55(5):471-480. DOI: 10.1134/S0555109919040081 (In Russian).
- Egorov AM, Osipov AP, Dzantiev BB, Gavrilova EM. *Teoriya i praktika immunofermentnogo analiza*. M.: Vyssh. shk., 1991. (In Russian).
- Finney DJ. *Statistical method in biological assay*. Charles Griffin & Company, 1978.
- Morris TH. Antibiotic therapeutics in laboratory animals. *Lab Anim*. 1995;29(1):16-36. DOI: 10.1258/002367795780740393
- Dórea JG. Low-dose Thimerosal (ethyl-mercury) is still used in infants' vaccines: Should we be concerned with this form of exposure? *J Trace Elem Med Biol*. 2018;49:134-139. DOI: 10.1016/j.jtemb.2018.05.010

Информация о соавторах:

Бурмистров Егор Андреевич, стажер-исследователь отдела биологических технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Вагайская Анастасия Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Буданова Наталья Юрьевна, кандидат химических наук, научный сотрудник отдела биологических технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Трунякова Александра Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Комбарова Татьяна Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Иванов Сергей Андреевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биологических технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дунайцев Игорь Анатольевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела биологических технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дентовская Светлана Владимировна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Анисимов Андрей Павлович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Egor A. Burmistrov, intern researcher of the Department of Biological Technologies State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Anastasiya S. Vagaiskaya, Junior Researcher of laboratory for plague microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Natalia Yu. Budanova, PhD in Chemical Sciences, Researcher of the Department of Biological Technologies State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Alexandra S. Trunyakova, Junior Researcher of laboratory for plague microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Tatyana I. Kombarova, PhD in Biological Sciences, Senior Scientist, Biological Testing Laboratory State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Sergey A. Ivanov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of laboratory for plague microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Igor A. Dunaytsev, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Department of Biological Technologies State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Svetlana V. Dentovskaya, MD, PhD, DSc, major researcher of laboratory for plague microbiology State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Andrey P. Anisimov, MD, PhD, DSc, Professor, associate Director State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

НОВЫЕ КНИГИ

Сибирская язва вчера и сегодня. Маринин Л.И., Дятлов И.А., Шишкова Н.А., Фирстова В.В. Оболенск; Москва: Династия, 2022. 647 с.: ил., цв. ил.; 27 см.

В книге представлен анализ сведений литературы и результатов собственных многолетних экспериментальных исследований по сибирской язве. Освещено современное состояние эпидемиологии, специфической профилактики, клинической и лабораторной диагностики, включая использование методов геносистематики возбудителя. Приведены особенности сибирской язвы в современных условиях. Дана оценка возможности появления антибиотикорезистентных и иммунорезистентных штаммов возбудителя и приведены рекомендации по профилактике и лечению при заражении такими штаммами. Авторы являются известными специалистами по сибирской язве. Написанная ими книга будет полезной для практических врачей и научных сотрудников, занимающихся изучением проблем сибирской язвы.

