

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЦИТОКИНОПОДОБНОЙ АКТИВНОСТИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* МУЛЬТИПЛЕКСНЫМ И ИММУНОФЕРМЕНТНЫМ АНАЛИЗОМ

© 2018 г. Л. О. Фомина¹, А. И. Файзуллина¹, В. А. Зурочка^{1,2}, М. А. Добрынина¹, А. С. Симбирцев³, В. А. Гриценко⁴

¹ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

²ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», Челябинск, Россия;

³ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБУН «Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза» Уральского отделения Российской академии наук, Оренбург, Россия

Поступила: 09.05.2018. Принята: 24.06.2018

В работе приведены результаты исследования супернатантов суточных бульонных культур *Staphylococcus aureus* по определению в них цитокино-подобных веществ (INF- γ , INF- α , IL-1Ra, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17a, TNF- α) методом иммуноферментного анализа с применением наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург), а также методом мультиплексного анализа с использованием иммунофлуоресцентных тест-систем компании БиоРад (США) и Multiplex (Luminex, США). Установлено, что в супернатантах некоторых штаммов *Staphylococcus aureus* выявлялись цитокино-подобные вещества (INF- γ , IL-1Ra, IL-1 β и TNF- α) обоими методами (иммуноферментным и иммунофлуоресцентным), тогда как IL-6, IL-8, IL-10 и IL-17a определялись только иммунофлуоресцентным методом, а INF- α — только иммуноферментным. Отмечено, что часть цитокино-подобных веществ (IL-1Ra, TNF- α) в большей концентрации определялись методом иммунофлуоресцентного анализа, а INF- γ и IL-4 — методом иммуноферментного анализа.

Ключевые слова: цитокины, *S. aureus*, цитокино-подобные вещества

DOI: 10.31857/S102872210002428-5

Адрес: Екатеринбург, ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Фомина Людмила Олеговна.

Тел.: +79000918839; **E-mail:** fomina454@yandex.ru.

Авторы:

Фомина Л. О., аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

Файзуллина А. И., аспирант ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

Зурочка В. А., д.м.н., доцент кафедры пищевых и биотехнологий, ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (национальный исследовательский университет), с.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Челябинск, Россия;

Добрынина М. А., м.н.с. лаборатории иммунологии воспаления ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия;

Симбирцев А. С., д.м.н., член-корреспондент РАН, профессор, директор по научной работе ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Гриценко В. А., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Ранее в наших исследованиях было показано, что при использовании тест-систем для мультиплексного анализа компаний-производителей BioRAD и Multiplex в суспензиях суточных культур бактерий разных видов микроорганизмов определяются цитокино-подобные вещества (ЦПВ), аналогичные цитокинам человека, в широком спектре и различных концентрациях [1–3]. При этом часть штаммов вида *S. aureus* выделяли в среду инкубации большое количество ЦПВ

(до 21) в относительно высоких концентрациях, тогда как другие изоляты стафилококков либо их не секретировали, либо секретировали, но в незначительных количествах.

Следует отметить, что при воздействии на бактерии вида *S. aureus* синтетического пептида активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) — ZP2 микроорганизмы могли изменять свою цитокино-продукцию, а характер этих изменений зависел от штамма стафилококков: часть из них отвечала усилением цитокино-продукции, часть снижением, а у части она не изменялась [4], то есть данное свойство подвержено регуляторному влиянию иммунотропных веществ.

С другой стороны, экспериментально установлено, что в среде инкубации нейтрофилов при их контакте с *S. aureus* наблюдалось увеличение концентрации многих цитокинов («цитокиновый шторм») [5], которое могло быть связано не только с индуцированной секрецией цитокинов фагоцитами, но и с выделением ЦПВ стафилококками.

В то же время остается неясным ряд вопросов, связанных с цитокино-продукцией *S. aureus*, в частности, идентифицируются ли ЦПВ бактерий другими тест-системами по определению цитокинов человека, в том числе для иммуноферментного анализа (ИФА).

Этот вопрос становится особенно актуален, если учесть, что недавно в исследованиях зарубежных авторов было установлено, что какие-то продукты отдельных клинических изолятов *S. aureus*, находящиеся в среде культивирования, при постановке ИФА обнаруживают перекрестную реакцию с антителами для мышинных цитокинов IL-1 β и TNF- α [6]. Эта кросс-реакция, которая, по мнению авторов, связана с некоторыми неизвестными продуктами *S. aureus*, взаимодействующими с антителами против мышинных цитокинов, может приводить к получению ложноположительных и завышенных результатов при определении концентрации цитокинов в тестируемых жидкостях. Поэтому очень важным является вопрос о возможном перекрестном реагировании ЦПВ бактерий с антителами против цитокинов человека, тестируемых иммунофлюоресцентным и иммуноферментным анализами.

Исходя из этого, интересным представлялось определение наличия, спектра и концентрации ЦПВ в супернатантах суточных бульонных

культур *S. aureus* с помощью иммуноферментного анализа с использованием наборов для выявления цитокинов человека, а также сравнение этих характеристик с параметрами бактериальной цитокино-продукции, полученными с применением тест-систем для мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа разных фирм-производителей.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение цитокино-подобной активности у клинических и музейных штаммов *S. aureus* при использовании тест-систем для мультиплексного иммунофлюоресцентного и иммуноферментного анализов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург), Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН (г. Оренбург) и «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА (г. Санкт-Петербург).

Цитокино-продукция изучена у 23 штаммов *S. aureus*, в том числе 2 эталонных штаммов из ATCC №№ 25923 (TM-2) и 6538—209P. Бактерии выращивали в мясопептонном бульоне (МПБ) в течение 24 ч при 37°C, после чего культуры центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 минут и препаративно отбирали фильтрат надосадочной жидкости (супернатант).

Наличие в супернатантах бактерий цитокино-подобных веществ (ЦПВ) определяли методом иммуноферментного анализа на приборе Multiscan (США) с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) для определения 10 цитокинов (INF- γ , INF- α , IL-1Ra, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α). Опыты проводили в двух повторах; результаты измерений округляли до 0,1 пкг/мл.

Также секрецию ЦПВ определяли с помощью мультиплексных иммунофлюоресцентных наборов компании «БиоРад» (США) для определения 17 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-13, IL-12p70, IL-17A, TNF- α , MCP-1, MIP-1 β) и 27 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-1Ra, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17a, TNF- α , MCP-1, MIP-1 β , Bas. FGF, Eotaxin, IP-10, PDGF-BB, RANTES, VEGF, MIP-1a) на приборе MAGPIX-100 (США).

Кроме того на приборе MAGPIX-100 (США) определяли наличие в супернатантах бактерий ЦПВ с использованием тест-системы фирмы

Multiplex (Luminex, США) для определения 15 цитокинов (G-CSF, GM-CSF, INF- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17A, MCP-1, MIP-1 β , TGF- α).

Во всех случаях контролем служил МПБ без бактерий.

В анализ для сравнительной оценки цитокино-продукции бактериями взяты результаты определения 9 цитокинов (INF- γ , IL-1Ra, IL-1 IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α ,) двумя тест-системами компании «БиоРад» (США) и 1 тест-системы компании Multiplex (Luminex, США), в качестве сравнения использовались данные, полученные с помощью 10 наборов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) для ИФА цитокинов (INF- γ , INF- α , IL-1Ra, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- α).

Препаративная работа с супернатантами бактерий и определением в них ЦПВ проводились в разное время.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программы Statistica 10.0.

Используя критерий Манна-Уитни, различия считали достоверными при $p < 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные данные, суммированные в таблице, свидетельствуют о том, что через 24 часа культивирования бактерий в МПБ при 37°C в супернатантах *S. aureus* методом ИФА определялись различные цитокины, при этом наиболее высокие показатели были установлены для INF- γ , INF- α , IL-1Ra и IL-4, причем их концентрация варьировала в достаточно широком диапазоне — от 6,70 до 2339,00 пкг/мл.

В целом эти показатели соответствовали данным, полученным с использованием тест-систем для иммунофлуоресцентного мультиплексного анализа Multiplex (Luminex, США) и «БиоРад» (США). Кроме того эти данные указывают на то, что моноклональные антитела против тех или иных цитокинов человека разных фирм-производителей могут перекрестно взаимодей-

Таблица. Сравнение цитокино-продукции суточных культур *S. aureus* ИФА и иммунофлуоресцентным методами пкг/мл

Методы	Имуноферментный метод (n=10)		Имунофлуоресцентный метод					
			Luminex, (США) (n=23)		БиоРад (1) (США) (n=14)		БиоРад (2) (США) (n=8)	
Цитокины	Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов (min-max)	Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m)	Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов	Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m)	Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов	Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m)	Диапазон (min-max) концентраций ЦПВ во всей выборке штаммов	Средний уровень ЦПВ во всей выборке штаммов (M \pm m)
INF γ	18,0–2339,0	854,3 \pm 238,8	0–239,6	63,7 \pm 17,9*	14,0–79,5	30,3 \pm 5,9*	33,7–106,1	68,8 \pm 10,3*
INF α	4,8–178,2	59,2 \pm 19,5	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли
IL-1Ra	0–63,7	30,0 \pm 7,3	Не определяли	Не определяли	Не определяли	Не определяли	3,3–438,9	264,4 \pm 55,7*
IL-1 β	0–1,7	1,4 \pm 0,3	0–7,6	1,5 \pm 0,4	15,0–124,0	45,8 \pm 9,5*	6,9–15,8	11,0 \pm 1,2*
IL-4	1,3–162,6	59,6 \pm 17,8	0–14,0	2,5 \pm 0,8*	21,0–63,0	31,8 \pm 3,6*	0,9–1,8	1,3 \pm 0,1*
IL-6	0–0,01	0,01 \pm 0,01	0–4,3	0,4 \pm 0,2	19,0–448,5	134,4 \pm 39,9*	4,8–73,3	44,4 \pm 8,3*
IL-8	0–0,04	0,01 \pm 0,02	Не определяли	Не определяли	17,0–223,0	93,2 \pm 19,6*	5,3–81,2	44,8 \pm 8,5*
IL-10	0–27,0	2,8 \pm 2,8	0–8,6	1,0 \pm 0,4	33,0–412,0	162,3 \pm 35,0*	10,4–67,9	43,9 \pm 8,3*
IL-17a	0–0,2	0,01 \pm 0,01	0–51,8	14,7 \pm 4,1*	31,0–1025,0	473,5 \pm 103,5*	0–900,3	646,3 \pm 119,6*
TNF- α	0–1,2	0,4 \pm 0,1	Не определяли	Не определяли	17,0–71,0	29,2 \pm 4,7*	39,25–159,24	96,3 \pm 17,4*

Примечание: *Статистически значимые различия между показателями имуноферментного и иммунофлуоресцентного анализов ($p < 0,05$).

ствовать с цитокино-подобными веществами *S. aureus*.

Было выявлено, что у изученных штаммов *S. aureus* различными тест-системами определялись ЦПВ, идентифицируемые обоими видами анализа (иммуноферментным и иммунофлюоресцентным): INF- γ , IL-1Ra, IL-4, IL-10 и TNF- α . При этом IL-6, IL-8, IL-10, IL-17a определялись в относительно высоких концентрациях только иммунофлюоресцентным методом, INF- α — только иммуноферментным, а ЦПВ, «тождественные» цитокинам INF- γ IL-1Ra, IL-1 β и TNF- α , достоверно определялись обоими методами. Отмечено, что часть бактериальных ЦПВ в большей концентрации определялись тест-системами для иммунофлюоресцентного анализа (IL-1Ra, TNF- α), тогда как другие ЦПВ (INF- γ и IL-4) — наборами для ИФА.

ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном исследовании установлено, что методами иммуноферментного и мультиплексного иммунофлюоресцентного анализов в супернатантах суточных бульонных культур *S. aureus* определяются ЦПВ, «сходные» с цитокинами человека, в широком спектре и относительно высоких концентрациях. Немаловажным является факт штаммовой вариабельности цитокино-подобной активности бактерий: в изученных выборках изолятов *S. aureus* имелись штаммы бактерий как с относительной высоким уровнем продукции ЦПВ, так и с низким уровнем секреции ЦПВ вплоть до отсутствия у них указанного свойства.

Следует отметить, что чувствительность тест-систем как для иммуноферментного, так и иммунофлюоресцентного методов существенно колебалась, или она была очень низкой и вообще не детектировала в супернатантах бактериальные ЦПВ. Например, тест-системы ООО «Цитокин» для ИФА в супернатантах определяли бактериальные ЦПВ (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17a) в крайне низких концентрациях или не определяли вовсе, а наборы для мультиплексного иммунофлюоресцентного анализа Multiplex (Luminex, США) плохо улавливали ЦПВ, подобные IL-1 β , IL-4 и IL-6. В то же время тест-системы компании «БиоРад» (США) выявляли в супернатантах ЦПВ практически всего спектра анализируемых цитокинов. Возможно, это связано с тем, что у разных фирм-производителей тест-систем моноклональные антитела получены к разным эпитомам цитокинов человека и не всегда дают

перекрестную реакцию с ЦПВ *S. aureus*. Поэтому для более точного определения наличия/спектра/уровня продукции ЦПВ бактерий разной таксономической принадлежности нужно использовать разные варианты анализа (иммуноферментный, иммунофлюоресцентный) с применением разных тест-систем от разных фирм-производителей, чтобы исключить получение ложно-отрицательных результатов.

ВЫВОДЫ

1. В супернатантах суточных бульонных культур *S. aureus* иммуноферментными и мультиплексными иммунофлюоресцентными тест-системами различных фирм-производителей выявляется широкий спектр цитокино-подобных веществ в штаммовых концентрациях.

2. Для определения в супернатантах *S. aureus* цитокино-подобных веществ, аналогичных человеческим цитокинам INF- γ , INF- α и IL-4, предпочтительно применение иммуноферментного анализа.

3. Для выявления в супернатантах *S. aureus* цитокино-подобных веществ, сходных с человеческими цитокинами IL-1Ra, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-17a и TNF- α , следует использовать иммунофлюоресцентный метод с применением мультиплексных тест-систем компании «БиоРад».

(Работа выполнена по теме из Плана НИР ИИФУрОРАН, № гос. регистрации АААА-А18—118020690020—1, и теме из Плана НИР ИКВС УрО РАН, № гос. регистрации 116021510075)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Гриценко В. А. Бактерии как продуценты цитокиноподобных веществ. Российский иммунологический журнал 2017, 11 (20), 3, 374—376. [Zurochka A. V., Dukardt V. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Bacteria as producers of cytokine-like substances. Russian journal of immunology 2017, 11 (20), 3, 374—376].
2. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Дукардт В. В., Гриценко В. А. Цитокиновая и антицитокиновая активность стафилококков. Методические особенности. Российский иммунологический журнал 2017, 11 (20), 4, 707—709. [Zurochka A. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Dukardt V. V., Gritsenko V. A. Cytokine and anti-cytokine activity of staphylococci. Methodical features. Russian journal of immunology. 2017, 11 (20), 4, 707—709].

3. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Тяпаева Я. В., Грищенко В. А. Стафилококки как продуценты цитокиноподобных веществ. Российский иммунологический журнал. 2017, 11 (20), 2, 134–136. [Zurochka A. V., Dukardt V. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Staphylococcus as producers of cytokine-like substances. Russian immunological magazine. 2017, 11 (20), 2, 134–136].
4. Зурочка А. В., Дукардт В. В., Зурочка В. А., Добрынина М. А., Зуева Е. Б., Белозерцева Ю. П., Тяпаева Я. В., Грищенко В. А. *Staphylococcus aureus*: спонтанная продукция цитокино-подобных веществ и её регуляция синтетическим аналогом активного центра гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2017, 1, 15 с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/ZAV-2017-1.pdf>). [Zurochka A. V., Dukardt V. V., Zurochka V. A., Dobrynina M. A., Zuyeva E. B., Belozertseva Yu. P., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. *Staphylococcus aureus*: spontaneous production of cytokine-like substances and regulation by synthetic analogue of the active centre of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). Bulletin of Orenburg scientific center UrB RAS. 2017, 1, 15p [An electronic resource]. (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2017-1/Articles/ZAV-2017-1.pdf>)].
5. Зурочка А. В., Зурочка В. А., Зуева Е. Б., Добрынина М. А., Дукардт В. В., Ю. П. Белозерцева, Тяпаева Я. В., Грищенко В. А. Сравнительная оценка влияния синтетического пептида активного центра ГМ-КСФ (Zp2) и супернатантов суточных культур грамотрицательных и грамположительных бактерий на продукцию цитокинов нейтрофилами периферической крови человека. Российский иммунологический журнал 2016, 10 (19), 4, 430–433. [Zurochka A. V., Zurochka V. A., Zuyeva E. B., Dobrynina M. A., Dukardt V. V., Belozertseva Y. V., Tyapayeva Y. V., Gritsenko V. A. Comparative assessment of influence of synthetic peptide of the GM-CSF active center (Zp2) and supernatants of daily cultures of gramnegative and grampositive bacteria on production cytokines neutrophils by human peripheral blood. Russian journal of immunology 2016, 10 (19), 4, 430–433].
6. Javed N., Xue G., Lu A., Xing Y., Iwakura Y., Xiao H., Lecoeur H., Späth G. F., Meng G. Cross reactivity of *S. aureus* to murine cytokine assays: A source of discrepancy. Cytokine 2016, 81, 101–108.
7. Медик В. А., Токмачев М. С., Фишман Б. Б. Статистика в медицине и биологии. «Теоретическая статистика». Под ред. Комарова Ю. М.. Медицина, Москва, 2000, 1, 454. [Medik V. A., Tokmachev M. S., Fishman B. B. Statistika in medicine and biology. “Theoretical statistics”. Under the editorship of Yu. M. Komarov. Medicine, Moscow, 2000, 1, 454].

COMPARATIVE EVALUATION CYTOKINE-LIKE ACTIVITY OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BY METHODS MULTIPLEX AND ELISA

© 2018 L. O. Fomina¹, A. I. Fayzullina¹, V. A. Zurochka^{1,2}, Dobrynina M. A.¹, A. S. Symbircev³, V. A. Gritsenko⁴

¹Institute of Immunology and Physiology UrB RAS, Ekaterinburg, Russia

²South-Ural State University (National Research University), Chelyabinsk, Russia

³Federal state unitary enterprise “State research Institute of high-purity biological products” of the Federal medical biological Agency, St. Petersburg, Russia

⁴Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

Received: 09.05.2018. Accepted: 24.06.2018

The paper presents the results of investigations of supernatants of the daily broth cultures of *Staphylococcus aureus* to the definition of cytokine-like substances (INF- γ , INF- α , IL-1Ra, IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17a, TNF- α) by the method of enzyme immunoassay with the use of the “Cytokine” kits (St. Petersburg), as well as multiplex analysis using the BioRad immunofluorescence test-systems (USA) and Multiplex (Luminex, USA). It was found that cytokine-like substances (IL-1Ra, IL-1 β , TNF- α and INF- γ) were detected in supernatants of some strains of *Staphylococcus aureus* by both methods (immunoenzyme and immunofluorescent), whereas IL-10, IL-6, IL-8 and IL-17a were determined only by immunofluorescent method, but INF- α – only by enzyme immunoassay. It was noted that a part of the cytokine-like substances in a greater concentration were determined by the method of immunofluorescence analysis (IL-1Ra, TNF- α), and also as INF- γ and IL-4 by the method of enzyme immunoassay.

Key words: cytokines, *S. aureus*, cytokine-like substances

Authors:

Fomina L. O., ✉ post-graduate student of the Institute of immunology and physiology of the Ural branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

620049 Ekaterinburg, Pervomaickaya str. 106, Institute of Immunology and Physiology UrB RAS. Phone: +79000918839;

E-mail: fomina454@yandex.ru;

Fayzullina A. I., post-graduate student of the Institute of immunology and physiology of the Ural branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

Zurochka V. A., MD, assistant professor of the Department of food and biotechnology, senior researcher of the laboratory of molecular immunology of the South Ural state University (national research University), senior scientific researcher of the laboratory of immunology of inflammation of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Chelyabinsk, Russia;

Dobrynina M. A., Junior scientific researcher of the laboratory of immunology of inflammation of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia;

Simbirtsev A. S., MD, corresponding member of RAS, Professor, Director of scientific work of FSUE “ State.Research Institute “ FMBA of Russia, St. Petersburg, Russia;

Gritsenko V. A., MD, Professor, head of the laboratory of the Institute of cellular and intracellular symbiosis of the RAS, scientific Secretary of the Presidium of the Orenburg scientific center of the RAS, Orenburg, Russia.