

Изучение свойств поливалентной сыворотки кишечного иерсиниоза, полученной от экспериментальных животных с применением различных схем иммунизации

Л.Н.Туйчиев^{1,2}, А.М.-Т.Бектимиров¹, Н.У.Таджиева^{1,2}, О.Ш.Касимов¹,
А.О.Абдуллаев³, Ж.А.Анваров^{1,2}, И.Х.Маматкулов⁴

¹Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Республика Узбекистан;

³Ташкентский международный университет Кимё, Ташкент, Республика Узбекистан;

⁴Узбекский научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. А.Султанова, Ташкент, Республика Узбекистан

В статье описаны результаты получения поливалентной сыворотки у экспериментальных животных путем гипериммунизации, а также динамика общего белка, альбуминов, глобулинов, показателей IgA, IgM, IgG, активность сывороток с использованием расширенной реакции агглютинации в предметных стеклах и пробирках на стадиях гипериммунизации. Увеличение количества глобулинов наблюдалось как иммунный ответ в организме экспериментальных животных на 7, 14, 21, 28-й дни иммунизации.

В сыворотках крови, полученных от экспериментальных животных, которым вводили совместно с инактивированными корпускулярными и растворимыми антигенами сероварных штаммов *Yersinia enterocolitica*, на 28-е сутки эксперимента наблюдались высокие показатели общего белка, альбумина, глобулина и IgG.

Ключевые слова: кишечный иерсиниоз, *Yersinia enterocolitica*, гипериммунизация, поливалентная сыворотка, общий белок, альбумин, глобулин, IgA, IgM, IgG, агглютинация, антиген

Для цитирования: Туйчиев Л.Н., Бектимиров А.М.-Т., Таджиева Н.У., Касимов О.Ш., Абдуллаев А.О., Анваров Ж.А., Маматкулов И.Х. Изучение свойств поливалентной сыворотки кишечного иерсиниоза, полученной от экспериментальных животных с применением различных схем иммунизации. Бактериология. 2024; 9(4): 34–40. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-34-40

Studying the properties of polyvalent serum of intestinal yersinosis obtained from experimental animals using various immunization scheme

L.N.Tuychiev^{1,2}, A.M.-T.Bektimirov¹, N.U.Tadjieva^{1,2}, O.Sh.Kasimov¹,
A.O.Abdullaev³, Zh.A.Anvarov^{1,2}, I.Kh.Mamatkulov⁴

¹Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Tashkent, Republic of Uzbekistan;

²Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan;

³Tashkent Kimyo International University, Tashkent, Republic of Uzbekistan;

⁴A.Sultanov Uzbek Research Chemical and Pharmaceutical Institute, Tashkent, Republic of Uzbekistan

The article describes the results of obtaining polyvalent serum in experimental animals by hyperimmunization, as well as the dynamics of total protein, albumins, globulins, IgA, IgM, IgG indicators, serum activity using an expanded agglutination reaction in glass slides and test tubes. at the stages of hyperimmunization.

An increase in the amount of globulins was observed as an immune response in the body of experimental animals on days 7–14–21–28 of immunization.

Для корреспонденции:

Туйчиев Лазиз Надинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии

Адрес: 100109, Республика Узбекистан, Ташкент, ул. Фароби, 2

Статья поступила 18.02.2024 принята к печати 25.12.2024

For correspondence:

Laziz N. Tuychiev, MD, PhD, DSc, professor, Head of Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent Medical Academy

Address: 2 Farobiy str., Tashkent, 100109, Respublica Uzbekistan

The article was received 18.02.2024, accepted for publication 25.12.2024

In blood sera obtained from experimental animals that were administered together with inactivated corpuscular and soluble antigens of serovar strains of *Yersinia enterocolitica*, high levels of total protein, albumin, globulin and IgG were observed on the 28th day of the experiment.

Key words: *intestinal yersiniosis, Yersinia enterocolitica, hyperimmunization, polyvalent serum, total protein, albumin, globulin, IgA, IgM, IgG, agglutination, antigen*

For citation: Tuychiev L.N., Bektimirov A.M.-T., Tadjieva N.U., Kasimov O.Sh., Abdullaev A.O., Anvarov Zh.A., Mamatkulov I.Kh. Studying the properties of polyvalent serum of intestinal yersiniosis obtained from experimental animals using various immunization scheme. Bacteriology. 2024; 9(4): 34–40. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-4-34-40

В настоящее время бактериальные инфекции представляют собой глобальную проблему. Примером тому являются бактерии рода *Yersinia*, представители которого вызывают опасные инфекционные заболевания. Представители рода *Yersinia* из семейства *Enterobacteriaceae* – грамотрицательные палочки, факультативные анаэробы. Род включает в себя 18 видов, самые распространенные из них: *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* и *Y. pestis* (возбудитель чумы) [1–4]. К энтеропатогенным иерсиниям относят возбудителей псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза (*Y. enterocolitica*). Основным резервуаром возбудителя являются грызуны [5, 6].

Бактериологический метод, используемый при диагностике кишечного иерсиниоза, характеризуется высокой трудоемкостью, длительными сроками выделения возбудителей, низкой эффективностью, дает большое количество ложных выделений иерсиниозных культур, что связано со значительной обсемененностью патологического материала кишечной микрофлорой и несовершенством методов выделения. Серологические методы диагностики значительно повышают эффективность выделения иерсиний [7, 8].

Стандартные сыворотки важны для эффективности серологических исследований. Их получают путем гипериммунизации.

Гипериммунизация – это метод парентерального введения животным нарастающих доз соответствующих антигенов с целью получения наивысшей ответной иммунологической реакции организма, а, следовательно, и максимального увеличения в крови животных специфических антител, которое должно обеспечивать лечебный, профилактический и диагностический эффект препаратов [9, 10].

В целях совершенствования мероприятий против кишечного иерсиниоза необходимо в первую очередь усовершенствовать методы диагностики этой инфекции. Для выявления возбудителей основных сероваров (*Y. enterocolitica* O5, *Y. enterocolitica* O9), полученных от больных и из объектов внешней среды, необходимо получить агглютинирующие сыворотки. Это, в свою очередь, создает основу для ранней и своевременной диагностики кишечного иерсиниоза и проведения соответствующих профилактических мероприятий.

Цель исследования заключается в изучении свойств поливалентных сывороток кишечного иерсиниоза, полученных от экспериментальных животных по различным схемам иммунизации.

Материалы и методы

Для гипериммунизации использовали 12 кроликов весом от 2,3 до 3,3 кг в возрасте от 4 до 6 мес. Эксперименты про-

водились в соответствии с методическим пособием «Методика и правила работы с лабораторными животными при экспериментальных микробиологических и иммунологических исследованиях», утвержденным Министерством здравоохранения Республики Узбекистан в 2016 г. [11].

Бактериологический метод. В процессе получения сывороток использовали штаммы сероваров O3 *Y. enterocolitica* 005011/659 и O9 *Y. enterocolitica* 005008/656. Экспериментальным животным вводили приготовленную в различных концентрациях по стандарту МакФарланда суспензию культур этих штаммов, которые культивированы на нейтральном агаре. Экспериментальных животных содержали в карантине в течение 21 дня.

Кролики были разделены на 4 группы по 3 особи:

- в I группе при 1-й иммунизации кроликов прививали штаммом *Y. enterocolitica* 005011/659 серовара O3 (концентрация корпускулярных микробных клеток 4 млрд кл./мл), при 2-й – 8 млрд кл./мл, при 3-й – 16 млрд кл./мл, при 4-й – 20 млрд кл./мл, при 5-й – 25 млрд кл./мл;
- во II группе при 1-й иммунизации прививали штаммом *Y. enterocolitica* 005011/659 серовара O3 концентрацией 4 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 2-й – 4 млрд кл./мл растворимого антигена, при 3-й – 16 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 4-й – 20 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 5-й – 25 млрд кл./мл растворимого антигена;
- в III группе при 1-й иммунизации прививали штаммом *Y. enterocolitica* 005008/656 серовара O9 корпускулярных микробных клеток концентрацией 4 млрд кл./мл, при 2-й – 8 млрд кл./мл, при 3-й – 16 млрд кл./мл, при 4-й – 20 млрд кл./мл, при 5-й – 25 млрд кл./мл;
- в IV группе при 1-й иммунизации прививали штаммом *Y. enterocolitica* 005008/656 серовара O9 концентрацией 4 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 2-й – 4 млрд кл./мл растворимого антигена, при 3-й – 16 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 4-й – 20 млрд кл./мл растворимого и корпускулярного антигена в соотношении 1:1, при 5-й – 25 млрд кл./мл растворимого антигена.

Всем животным вводили по 1,6 мл инактивированной культуры *Y. enterocolitica* или растворимого антигена в 8 точек: первые 4 точки – подкожно вдоль позвоночника с двух сторон (1–4), следующие 4 точки – внутримышечно в мышцы обеих передних и задних лап (5–8). Объем инъекции в каждой точке составлял 0,2 мл.

Серологический метод. Исследования выполнены в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №170 от 19 апреля 2004 г. «О совершенствовании мер борьбы с иерсиниозами».

Иммунологические исследования. Для иммуноферментного определения общих иммуноглобулинов А, М и G, а также иммуноглобулинов классов М и G к возбудителям кишечного иерсиниоза использовали набор реагентов («Вектор-Бест», Россия). Результаты были оценены в соответствии с инструкцией производителя.

Анализ количества **общего белка, альбуминов и глобулинов** проводился ферментативно-колориметрическим методом на биохимическом анализаторе (Mindray BA-88A, КНР). Результаты оценивали в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический метод. Цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием программы Excel-Office 2013 с применением t-критерия Стьюдента. Вычисляли среднюю квадратичную ошибку (m), а также достоверность различий значений в сравниваемых группах. Различия считали достоверным при $p < 0,05$. Номинальные данные описаны с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных производилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, точного критерия Фишера. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и анализ

Изменение количества альбуминов и глобулинов в составе общего белка и белковых фракций считается ответной реакцией организма на гипериммунизацию. Глобулины участвуют в транспорте липидов, гормонов, витаминов и

ионов металлов в организме, их значение в иммунной системе доказано. Увеличение количества глобулинов как иммунный ответ наблюдалось в организме экспериментальных животных на 7, 14, 21 и 28-й дни иммунизации (табл. 1). Тенденция к увеличению содержания общего белка на эти же дни иммунизации также указывает на активацию защитного механизма, а содержание альбумина увеличивалось с $34,03 \pm 1,126$ г/л до $54,30 \pm 0,794$ г/л за счет увеличения содержания общего белка, повышенного до $70,33 \pm 2,345$ г/л.

IgM классическим путем влияет на активацию комплемента. Антитела этого класса вырабатываются при воздействии на организм инфекционного агента. Тот факт, что его количество при иммунизации не превышало стандартного уровня, свидетельствует о том, что заболевание не развилось в организме кролика.

Количество IgA и IgM в сыворотке крови увеличивалось на 7-й и 14-й день после иммунизации, снижалось на 21, 28, 35-й день. Количество IgG увеличивалось на 7, 14, 21 и 28-й дни после иммунизации и начинало снижаться через 35 дней. Этот иммуноглобулин обеспечивает память организма против инфекционного агента и обеспечивает вторичный гуморальный ответ на инфекцию.

Период полураспада IgG составляет 23–35 дней. Поэтому после 5-й иммунизации, т.е. с 35-го дня, его количество стало уменьшаться.

Не выявлены достоверные изменения к возбудителю кишечного иерсиниоза на показателях IgM ($p = 0,1–0,29$) и IgG ($p = 0,08–0,56$).

Таблица 1. Результаты гипериммунизации экспериментальных животных I группы
Table 1. Results of hyperimmunization of experimental animals of group I

Показатели / Indicators	До иммунизации / Before immunization			После 1-й иммунизации / After 1 st immunization		После 2-й иммунизации / After 2 nd immunization		После 3-й иммунизации / After 3 rd immunization		После 4-й иммунизации / After 4 th immunization		После 5-й иммунизации / After 5 th immunization	
	$M \pm m$	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	$68,37 \pm 2,554$	$97,90 \pm 0,624$	0,001	$89,57 \pm 0,498$	0,003	$104,80 \pm 1,419$	0,001	$106,6 \pm 7,123$	0,01	$59,2 \pm 3,782$	0,13*		
Альбумин, г/л / Albumin, g/l	$34,03 \pm 1,126$	$28,77 \pm 1,017$	0,04	$45,20 \pm 0,361$	0,002	$54,30 \pm 0,794$	0,0006	$53,8 \pm 3,78$	0,01	$30,6 \pm 1,935$	0,22*		
Глобулин, г/л / Globulin, g/l	$34,33 \pm 1,538$	$69,13 \pm 1,102$	0,0003	$44,43 \pm 0,348$	0,007	$50,50 \pm 0,814$	0,002	$52,8 \pm 3,355$	0,01	$28,6 \pm 1,85$	0,09*		
A/G, г/л / A/G, g/l	$0,99 \pm 0,025$	$0,41 \pm 0,021$	0,0003	$1,01 \pm 0,012$	0,52*	$1,07 \pm 0,017$	0,07*	$1,01 \pm 0,012$	0,52*	$1,06 \pm 0,007$	0,07*		
IgA, мг/мл (mg/ml)	$0,28 \pm 0,027$	$0,15 \pm 0,012$	0,02	$0,23 \pm 0,037$	0,35*	$0,11 \pm 0,007$	0,008	$0,31 \pm 0,023$	0,45*	$0,26 \pm 0,006$	0,52*		
IgM, мг/мл (mg/ml)	$1,14 \pm 0,090$	$0,42 \pm 0,006$	0,004	$0,34 \pm 0,009$	0,003	$0,18 \pm 0,012$	0,001	$0,24 \pm 0,012$	0,002	$0,18 \pm 0,003$	0,001		
IgG, мг/мл (mg/ml)	$1,07 \pm 0,260$	$0,69 \pm 0,086$	0,25*	$0,97 \pm 0,212$	0,78*	$1,64 \pm 0,028$	0,11*	$5,78 \pm 0,236$	0,001	$1,68 \pm 0,027$	0,10*		
IgM к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	$0,08 \pm 0,007$	$0,10 \pm 0,005$	0,10*	$0,10 \pm 0,014$	0,29*	$0,11 \pm 0,005$	0,03	$0,12 \pm 0,021$	0,016*	$0,12 \pm 0,003$	0,01		
IgG к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	$0,10 \pm 0,007$	$0,12 \pm 0,004$	0,08*	$0,12 \pm 0,010$	0,19*	$0,13 \pm 0,003$	0,02	$0,11 \pm 0,014$	0,056*	$0,11 \pm 0,004$	0,30*		

* различия показателей до иммунизации не имеют статистического значения, ОП – оптическая плотность.

* differences in indicators before immunization have no statistical significance, OD – optical density.

Таблица 2. Результаты гипериммунизации экспериментальных животных II группы
Table 2. Results of hyperimmunization of experimental animals of group II

Показатели / Indicators	До иммунизации / Before immunization			После 1-й иммунизации / After 1 st immunization			После 2-й иммунизации / After 2 nd immunization			После 3-й иммунизации / After 3 rd immunization			После 4-й иммунизации / After 4 th immunization			После 5-й иммунизации / After 5 th immunization		
	<i>M ± m</i>			<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>	
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	77,87 ± 2,888			91,63 ± 3,631	0,05		87,17 ± 14,11	0,56*		114,47 ± 10,52	0,04		121,9 ± 19,32	0,1*		60,87 ± 4,468	0,04	
Альбумин, г/л / Albumin, g/l	38,57 ± 1,445			33,4 ± 1,15	0,06		44,97 ± 7,872	0,48*		58,03 ± 5,04	0,03		62,13 ± 9,421	0,08*		31,2 ± 2,159	0,05	
Глобулин, г/л / Globulin, g/l	39,3 ± 1,443			58,23 ± 4,269	0,02		42,2 ± 6,278	0,68*		56,43 ± 5,538	0,05		59,1 ± 9,34	0,12*		29,67 ± 2,318	0,03	
А/Г, г/л / A/G, g/l	0,98 ± 0,003			0,58 ± 0,061	0,007		1,05 ± 0,035	0,14*		1,03 ± 0,022	0,1*		1,05 ± 0,018	0,03		1,05 ± 0,015	0,01	
IgA, мг/мл (mg/ml)	0,26 ± 0,033			0,17 ± 0,009	0,07*		0,29 ± 0,075	0,73*		0,11 ± 0,006	0,02		0,31 ± 0,038	0,39*		0,25 ± 0,013	0,79*	
IgM, мг/мл (mg/ml)	0,91 ± 0,046			0,40 ± 0,006	0,001		0,34 ± 0,042	0,002		0,16 ± 0,012	0,0005		0,21 ± 0,013	0,001		0,18 ± 0,003	0,0005	
IgG, мг/мл (mg/ml)	1,48 ± 0,124			1,15 ± 0,165	0,20*		0,88 ± 0,017	0,01		1,56 ± 0,074	0,61*		8,28 ± 0,549	0,001		1,73 ± 0,024	0,14*	
IgM к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,09 ± 0,002			0,09 ± 0,014	1,0*		0,09 ± 0,007	1,0*		0,1 ± 0,015	0,55*		0,11 ± 0,012	0,19*		0,12 ± 0,021	0,25*	
IgG к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,09 ± 0,007			0,10 ± 0,006	0,35*		0,107 ± 0,012	0,30*		0,12 ± 0,016	0,18*		0,10 ± 0,008	0,41*		0,10 ± 0,013	0,54*	

* различия показателей до иммунизации не имеют статистического значения, ОП – оптическая плотность.
* differences in indicators before immunization have no statistical significance, OD – optical density.

Таблица 3. Результаты гипериммунизации экспериментальных животных III группы
Table 3. Results of hyperimmunization of experimental animals of group III

Показатели / Indicators	До иммунизации / Before immunization			После 1-й иммунизации / After 1 st immunization			После 2-й иммунизации / After 2 nd immunization			После 3-й иммунизации / After 3 rd immunization			После 4-й иммунизации / After 4 th immunization			После 5-й иммунизации / After 5 th immunization		
	<i>M ± m</i>			<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>	
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	71,57 ± 4,114			91,07 ± 3,755	0,03		100,47 ± 2,033	0,008		106,37 ± 5,393	0,01		113,3 ± 15,112	0,07*		62,43 ± 4,476	0,22*	
Альбумин, г/л / Albumin, g/l	35,5 ± 2,007			33,97 ± 1,92	0,62*		51,37 ± 1,035	0,005		53,63 ± 2,521	0,01		59,13 ± 7,279	0,05		32,4 ± 2,219	0,37*	
Глобулин, г/л / Globulin, g/l	36,07 ± 2,114			57,1 ± 1,877	0,005		49,1 ± 1,002	0,01		52,73 ± 2,89	0,01		56,2 ± 7,535	0,08*		30,03 ± 2,315	0,14*	
А/Г, г/л / A/G, g/l	0,98 ± 0,006			0,59 ± 0,015	0,0001		1,04 ± 0,003	0,002		1,01 ± 0,02	0,24*		1,01 ± 0,009	0,06*		1,08 ± 0,029	0,04	
IgA, мг/мл (mg/ml)	0,14 ± 0,015			0,12 ± 0,015	0,41*		0,26 ± 0,044	0,08*		0,08 ± 0,003	0,02		0,30 ± 0,012	0,003		0,24 ± 0,13	0,50*	
IgM, мг/мл (mg/ml)	1,01 ± 0,046			0,41 ± 0,007	0,001		0,33 ± 0,006	0,001		0,17 ± 0,003	0,0003		0,2 ± 0,003	0,0004		0,2 ± 0,012	0,0004	
IgG, мг/мл (mg/ml)	1,35 ± 0,161			1,15 ± 0,129	0,40*		1,13 ± 0,197	0,45*		1,57 ± 0,037	0,27*		6,37 ± 0,46	0,001		1,66 ± 0,031	0,15*	
IgM, к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM, to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,10 ± 0,010			0,09 ± 0,008	0,49*		0,09 ± 0,012	0,56*		0,10 ± 0,012	1,0*		0,11 ± 0,013	0,58*		0,12 ± 0,017	0,38*	
IgG к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM, to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,08 ± 0,006			0,10 ± 0,007	0,11*		0,11 ± 0,011	0,09*		0,11 ± 0,017	0,19*		0,09 ± 0,008	0,90*		0,11 ± 0,013	0,12*	

* различия показателей до иммунизации не имеют статистического значения, ОП – оптическая плотность.
* differences in indicators before immunization have no statistical significance, OD – optical density.

Таблица 4. Результаты гипериммунизации экспериментальных животных IV группы
Table 4. Results of hyperimmunization of experimental animals of group IV

Показатели / Indicators	До иммунизации / Before immunization			После 1-й иммунизации / After 1 st immunization			После 2-й иммунизации / After 2 nd immunization			После 3-й иммунизации / After 3 rd immunization			После 4-й иммунизации / After 4 th immunization			После 5-й иммунизации / After 5 th immunization		
	<i>M ± m</i>			<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>		<i>M ± m</i>	<i>p</i>	
Общий белок, г/л / Total protein, g/l	74,1 ± 4,823			104,37 ± 6,702	0,03		96,37 ± 2,369	0,02		123,03 ± 5,387	0,01		114,97 ± 12,486	0,05		64,87 ± 7,496	0,37*	
Альбумин, г/л / Albumin, g/l	37,07 ± 2,293			33,23 ± 3,206	0,40*		49,5 ± 2,291	0,10*		62,47 ± 2,72	0,005		58,17 ± 6,288	0,05		34,03 ± 2,285	0,63*	
Глобулин, г/л / Globulin, g/l	37,03 ± 2,531			71,13 ± 9,136	0,03		46,87 ± 0,406	0,03		60,57 ± 2,667	0,01		50,07 ± 12,724	0,38*		30,83 ± 5,219	0,36*	
A/G, г/л / A/G, g/l	1,00 ± 0,006			0,49 ± 0,092	0,01		1,04 ± 0,037	0,36*		1,03 ± 0,003	0,02		1,29 ± 0,273	0,36*		1,15 ± 0,145	0,37*	
IgA, мг/мл (mg/ml)	0,15 ± 0,015			0,13 ± 0,012	0,37*		0,26 ± 0,019	0,01		0,09 ± 0,003	0,02		0,33 ± 0,007	0,001		0,26 ± 0,003	0,005	
IgM, мг/мл (mg/ml)	0,40 ± 0,038			0,40 ± 0,006	1,0*		0,37 ± 0,021	0,53*		0,17 ± 0,003	0,01		0,19 ± 0,006	0,01		0,19 ± 0,009	0,01	
IgG, мг/мл (mg/ml)	1,25 ± 0,128			1,08 ± 0,136	0,42*		0,93 ± 0,234	0,31*		1,78 ± 0,06	0,03		6,91 ± 0,774	0,005		1,69 ± 0,086	0,05	
IgM, к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgM, to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,10 ± 0,009			0,10 ± 0,014	1,0*		0,11 ± 0,01	0,51*		0,10 ± 0,014	1,0*		0,12 ± 0,023	0,47*		0,12 ± 0,007	0,17	
IgG к возбудителю кишечного иерсиниоза, ОП / IgG, to the causative agent of intestinal yersiniosis, OD	0,11 ± 0,007			0,10 ± 0,016	0,60*		0,13 ± 0,018	0,37*		0,11 ± 0,008	1,0*		0,11 ± 0,017	1,0*		0,11 ± 0,008	1,0*	

* различия показателей до иммунизации не имеют статистического значения, ОП – оптическая плотность.

* differences in indicators before immunization have no statistical significance, OD – optical density.

По данным анализа сыворотки крови экспериментальных животных II группы, повышение общего белка с 91,63 ± 3,631 г/л до 121,9 ± 19,32 г/л на 7–28-й дни иммунизации свидетельствует о резкой защитной реакции организма экспериментальных животных (табл. 2). На 35-е сутки эксперимента содержание общего белка снизилось до 60,87 ± 4,468 г/л, что свидетельствует о процессе адаптации. Концентрация альбуминов за этот период увеличилась с 33,4 ± 1,15 г/л до 62,13 ± 9,421 г/л за счет увеличения общего белка и на 35-е сутки составила 31,2 ± 2,159 г/л.

На 7–28-й дни иммунизации количество глобулина увеличивалось до 58,23 ± 4,269 – 59,1 ± 9,34 г/л, а на 35-е сутки, наоборот, этот показатель снижался до 29,67 ± 2,318 г/л.

Количество IgA в сыворотке крови увеличивалось с 0,17 ± 0,009 мг/мл до 0,29 ± 0,075 мг/мл на 7–14-й дни иммунизации и снижалось до 0,11 ± 0,006 мг/мл на 21-е сутки, до 0,58 ± 0,054 мг/мл на 28-е сутки и до 0,25 ± 0,013 мг/мл на 35-е сутки. Вышеуказанные изменения количества этого иммуноглобулина в крови экспериментальных животных находились в пределах нормы.

Количество IgM снижалось до 0,40 ± 0,006 мг/мл на 7, 14, 21-е сутки после иммунизации, до 0,21 ± 0,013 мг/мл на 28-е сутки и до 0,18 ± 0,003 мг/мл на 35-е сутки. Учитывая, что IgM постепенно превращается в IgG, количество IgG увеличивалось с 1,15 ± 0,165 мг/мл до 8,28 ± 0,549 мг/мл на 7, 14, 21, 28-й дни и до 1,73 ± 0,024 мг/мл на 35-е сутки после иммунизации и снова начало снижаться до 0,024. Это показатель стандартного уровня, который показал адекватность иммунного ответа у экспериментальных животных.

Достоверных изменений показателей IgM ($p = 0,19–1$) и IgG ($p = 0,18–0,54$) возбудителя кишечного иерсиниоза не выявлено.

На 7, 14, 21, 28-е сутки иммунизации количество общего белка у опытных животных III группы увеличилось с 91,07 ± 3,755 г/л до 113,3 ± 15,112 г/л, а количество альбумина – с 33,97 ± 1,92 г/л до 59,13 ± 7,279 г/л. (табл. 3). На 35-й день иммунизации эти показатели составили 62,43 ± 4,476 г/л и 32,4 ± 2,219 г/л соответственно. Аналогично количество глобулинов увеличивалось на 7, 14, 21 и 28-е сутки иммунизации и снижалось на 35-е сутки.

Наблюдали, что количество IgA в сыворотке крови снижалось до 0,12 ± 0,015 мг/мл и 0,26 ± 0,044 мг/мл соответственно на 7-е и 14-е сутки, на 21-е сутки – до 0,08 ± 0,003 мг/мл, на 28-е сутки – до 0,30 ± 0,012 мг/мл, на 35-е сутки – до 0,24 ± 0,13 мг/мл.

Установлено, что количество IgM снижалось с 0,41 ± 0,007 мг/мл до 0,17 ± 0,003 мг/мл на 7, 14, 21-е сутки после иммунизации и оставалось стабильным на уровне 0,2 ± 0,003 – 0,2 ± 0,012 мг/мл на 28–35-е сутки.

Повышение IgG с 1,15 ± 0,129 мг/мл до 6,37 ± 0,46 мг/мл на 7, 14, 21, 28-й дни после иммунизации свидетельствовало о нормальном иммунном ответе у экспериментальных животных.

Достоверных изменений показателей IgM и IgG к возбудителю кишечного иерсиниоза не наблюдалось ($p = 0,38–1$; $p = 0,09–0,9$ соответственно).

Количество общего белка в сыворотке крови подопытных животных IV группы снизилось со 104,37 ± 6,702 г/л до 96,37 ±

Таблица 5. Динамика изменения титра антител у экспериментальных животных, иммунизированных штаммами *Y. enterocolitica*
Table 5. Dynamics of changes in antibody titers in experimental animals immunized with *Y. enterocolitica* strains

Группа животных / Animal group	До иммунизации / Before immunisation		Динамика антител / Antibody dynamics									
	A	B	7-й день / Day 7		14-й день / Day 14		21-й день / Day 21		28-й день / Day 28		35-й день / Day 35	
			A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
I	0	0	–	–	–	–	–	1:133	++	1:266	+++	1:800
II	0	0	–	–	–	–	–	1:50	+	1:133	+++	1:400
III	0	0	–	–	–	1:50	+	1:400	+	1:800	+++	1:11733
IV	0	0	–	–	–	–	+	1:300	+	1:533	+++	1:4266

A – реакция агглютинации на предметном стекле; B – расширенная реакция агглютинация в пробирках. Приведен средний арифметический титр серологических реакций. Обозначения: – – отрицательный, + – слабоположительный, ++ – положительный, +++ – сильно положительный, ++++ – резко положительный.

A – agglutination reaction on a glass slide; B – extended agglutination reaction in test tubes. The arithmetic mean titer of serological reactions is given. Designations: – – negative, + – weakly positive, ++ – positive, +++ – strongly positive, ++++ – sharply positive.

2,369 г/л на 7-й и 14-й дни иммунизации, а на 21–35-й дни иммунизации – с $123,03 \pm 5,387$ г/л до $64,87 \pm 7,496$ г/л. Наблюдалась тенденция снижения показателей общего белка (табл. 4).

Содержание глобулинов имело тенденцию к снижению с $71,13 \pm 9,136$ г/л до $46,87 \pm 0,406$ г/л на 7-е и 14-е сутки иммунизации и с $60,57 \pm 2,667$ г/л до $30,83 \pm 5,219$ г/л на 21-е и 35-е сутки. Это свидетельствовало о процессах адаптации в организме экспериментальных животных.

Содержание альбумина увеличилось с $33,23 \pm 3,206$ г/л до $62,47 \pm 2,72$ г/л после 1–3-й прививок, а после 4–5-й иммунизации снизилось с $58,17 \pm 6,288$ г/л до $34,03 \pm 2,285$ г/л. Наблюдалась тенденция к снижению.

IgA в сыворотке крови составлял $0,13 \pm 0,012$ мг/мл на 7-е сутки после иммунизации, $0,26 \pm 0,019$ мг/мл – на 14-е сутки, а на 21, 28, 35-е сутки иммунизации изменения количества IgA в сыворотке крови подопытных животных составляли соответственно $0,09 \pm 0,003$; $0,33 \pm 0,007$ и $0,26 \pm 0,003$ мг/мл. Было доказано, что защитная реакция организма на 20 млрд растворимого и корпускулярного антигена сильнее.

Количество IgM стабильно находилось на уровне $0,40 \pm 0,006$ – $0,37 \pm 0,021$ мг/мл через 7–14 дней после иммунизации, а с 21, 28, 35-го дней – до $0,17 \pm 0,003$ – $0,19 \pm 0,009$ мг/мл, наблюдалась тенденция к снижению. Количество IgG увеличивалось до $1,08 \pm 0,136$ – $6,91 \pm 0,774$ мг/мл на 7, 14, 21, 28-е сутки после иммунизации и резко снижалось до $1,69 \pm 0,086$ мг/мл после 5-й иммунизации. Данная ситуация показала, что в организме экспериментальных животных сформировался устойчивый вторичный иммунный ответ.

Достоверных изменений показателей IgM ($p = 0,47$ –1) и IgG ($p = 0,37$ –1) к возбудителю кишечного иерсиниоза не наблюдалось.

Сыворотки крови, полученные от экспериментальных животных (кроликов) IV группы на 7-й и 14-й дни иммунизации, показали слабоположительный результат при тестировании с помощью реакции агглютинации на предметном стекле (табл. 5).

Сыворотку крови, полученную от экспериментальных животных III группы, исследовали по указанной выше реакции: на 14-е сутки наблюдался слабоположительный результат.

На 21-е сутки иммунизации результат реакции агглютинации был слабоположительным в сыворотках крови животных I и II групп, положительным – в сыворотках крови животных III и IV групп.

На 28-й день иммунизации исследованные с помощью реакции агглютинации на предметном стекле сыворотки крови подопытных животных II, III и IV групп дали положительный, а сыворотки крови животных I группы – резко положительный результат.

На 35-й день иммунизации, т.е. на 5-й иммунизации антигенами, все сыворотки дали резко положительный результат.

При исследовании сывороток крови, полученных от экспериментальных животных на этапах иммунизации, с помощью расширенной реакции агглютинации в пробирках результат наблюдался в сыворотке крови животных III группы в титре 1:50 на 14-й день иммунизации.

С 21-го дня иммунизации, т.е. с 3-й инокуляции корпускулярными и растворимыми антигенами *Y. enterocolitica*, выявлена реакция агглютинации, начиная со среднеарифметического титра 1:50 и до титра 1:400.

Средние титры от 1:133 (II группа) до 1:11733 (3-я группа) наблюдались в расширенной реакции агглютинации сывороток крови, полученных на 28-й (4-я иммунизация) и 35-й (5-я иммунизация) день иммунизации.

Закключение

1. В организме экспериментальных животных наблюдалось увеличение количества глобулинов как иммунный ответ на 7, 14, 21 и 28-й дни иммунизации.

2. На 28-е сутки эксперимента выявлены высокие показатели общего белка, альбумина, глобулина и IgG в сыворотках крови животных II группы, которым были введены совместно корпускулярные и растворимые антигены штаммов серовара *Y. enterocolitica* O3.

3. В сыворотке крови IgA повышался на 14–28-е сутки, снижался на 21–35-е сутки, IgM снижался на 14-е и 21-е сутки, устойчивая тенденция наблюдалась через 28–35 суток.

4. Достоверных изменений показателей IgM и IgG в отношении возбудителя кишечного иерсиниоза не выявлено.

5. На 35-й день иммунизации (5-я иммунизация) антигенами все сыворотки дали резко положительный результат.

6. После 3-й иммунизации (с 21-го дня иммунизации) при исследовании сывороток крови, полученных от подопытных животных, с помощью реакции агглютинации в пробирках наблюдалось динамическое увеличение титра антител во всех группах.

7. Учитывая, что значения общего белка, альбумина, глобулина и IgG у подопытных кроликов наиболее высоки на 28-й день иммунизации, после 4-й недели от животных можно получить сыворотки с высоким титром.

8. Для получения полноценной активной гипериммунной сыворотки необходимо совместно использовать инактивированные корпускулярные и растворимые антигены.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Ахмедов РА, Касимов МС, Мамедзаде ФУ, Талыбзаде АН, Устун НМ. Кишечный иерсиниоз как природноочаговое заболевание. Биомедицина (Баку). 2009;2:36-37.
- Галкина ЛА, Мескина ЕР. Алгоритм диагностики и лечения иерсиниозов у детей. Учебно-метод. пособие. М., 2022.
- Карбышева НВ, Бобровский ЕА. Активность природных очагов и заболеваемость при иерсиниозной инфекции. Журнал инфектологии. 2016;8(2):52.
- Сомова ЛМ, Андрияков БГ. К 60-летию открытия изучения дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2019;6:85-89.
- Дороженкова ТЕ, Горбич ОА. Эпидемиологический профиль кишечного иерсиниоза в Республике Беларусь. Военная медицина (Минск). 2020;4:85-89.
- Дороженкова ТЕ, Горбич ОА. Эпидемиологическая характеристика и основы профилактики кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза. Учебно-метод. пособие. Минск, 2022.
- Есаулов АС, Митрофанова НН, Мельников ВЛ. Бактериологический метод лабораторной диагностики. Учеб. пособие. Пенза: Изд-во ПГУ, 2015.
- Каримова ТВ. Энтеропатогенные иерсинии: микробиологический мониторинг, молекулярно-биологические особенности, алгоритм лабораторной диагностики. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2017.
- Назарова ЕВ, Захаров МВ. Разработка тест-системы для серологической диагностики иерсиниозов – «Иерсиния РПГА». Известия ГГТУ. Медицина. Фармация. 2020;4:221.
- Шестакова ИВ, Ющук НД, Попова ТИ. Иерсиниоз: диагностические ошибки. Врач. 2007;7:71-74.
- Нуралиев НА, Бектимиров АМ-Т. Методы и правила работы с лабораторными животными при экспериментальных микробиологических и иммунологических исследованиях. Методическое руководство. Ташкент, 2016.
- Карбышева НВ, Бобровский ЕА. Activity of natural foci and morbidity in yersinia infection. Journal of Infectology. 2016;8(2):52. (In Russian).
- Somova LM, Andryukov BG. To the 60th anniversary of the discovery of the study of Far Eastern scarlet-like fever. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2019;6:85-89. (In Russian).
- Dorozhenkova TE, Gorbich OA. Epidemiological profile of intestinal yersiniosis in the Republic of Belarus. Military Medicine (Minsk). 2020;4:85-89. (In Russian).
- Dorozhenkova TE, Gorbich OA. Epidemiological characteristics and basics of prevention of intestinal yersiniosis and pseudotuberculosis. Educational manual. Minsk, 2022. (In Russian).
- Esaulov AS, Mitrofanova NN, Melnikov VL. Bacteriological method of laboratory diagnostics: textbook. Manual. Penza: PSU Publishing House, 2015. (In Russian).
- Karimova TV. Enteropathogenic Yersinia: microbiological monitoring, molecular biological features, laboratory diagnostic algorithm. Avtoref. diss. ... kand. med. nauk. Irkutsk, 2017. (In Russian).
- Nazarova EV, Zakharov MV. Development of a test system for serological diagnosis of yersiniosis – "Yersinia RPGA". News of GGTU. Medicine. Pharmacy. 2020;4:221. (In Russian).
- Shestakova IV, Yushchuk ND, Popova TI. Yersiniosis: diagnostic errors. Doctor. 2007;7:71-74. (In Russian).
- Nuraliev NA, Bektimirov AM-T. Methods and rules for working with laboratory animals during experimental microbiological and immunological studies. Methodological manual. Tashkent, 2016. (In Russian).

Информация о соавторах:

Бектимиров Амир Мангу-Темирович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней

Таджиева Нигора Убайдуллаевна, доктор медицинских наук, доцент кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии

Касимов Одилжон Шодиевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней

Абдуллаев Асилбек Онгалиевич, MD, PhD, доцент кафедры химии и биологии Ташкентского международного университета Кимё, декан направления «Эстетики красоты»

Анваров Жахонгир Абралович, ассистент кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии

Маматкулов Иброхим Хомидович, доктор медицинских наук, профессор, директор Узбекского научно-исследовательского химико-фармацевтического института им. А.Султанова

Information about co-authors:

Amir A-M. Bektimirov, MD, PhD, DSc, The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases

Nigora U. Tadjieva, MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of Tashkent Medical Academy

Odiljon Sh. Kasimov, MD, PhD, DSc, The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases

Jakhongir A. Anvarov, Senior lecturer of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent Medical Academy

Ibrokhim Kh. Mamatkulov, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the A.Sultanov Uzbek Research Chemical and Pharmaceutical Institute

References

- Akhmedov RA, Kasimov MS, Mamedzade FU, Talybzade AN, Ustun NM. Intestinal yersiniosis as a natural focal disease. Biomedicine (Baku). 2009;2:36-37. (In Russian).
- Galkina LA, Meskina ER. Algorithm for the diagnosis and treatment of yersiniosis in children. Educational manual. M., 2022. (In Russian).