

Получение и характеристика экспериментальных диагностических бруцеллезных кроличьих сывороток для разработки национального стандарта бруцеллезной сыворотки

Л. Н. Туйчиев^{1,2}, Б. М. Таджиев¹, Н. У. Таджиева^{*1,2}, О. Ш. Касимов¹,
А. М-Т. Бектимиров¹, А. П. Юсупов¹, Ж. А. Анваров^{1,2}, Б. В. Шукуров²

¹Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней
Министерство здравоохранения Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан

²Ташкентская медицинская академия, Ташкент, Республика Узбекистан

Резюме

Актуальность. В медицинской и ветеринарной практике республики Узбекистан в настоящее время происходит налаживание производства бруцеллезных диагностикумов. Отсутствие национальных стандартных сывороток вызывает проблемы в контроле качества коммерческих и местных антигенов, препятствует разработке местных препаратов – бруцеллезных диагностикумов, что снижает эффективность серодиагностики инфекции у людей и животных. Разработка и производство стандартизированной сыворотки с высоким уровнем специфичности и чувствительности позволит усовершенствовать лабораторную диагностику различных форм бруцеллеза у больных людей и животных и оперативно выявлять скрытые очаги инфекции на территории Узбекистана. **Цель.** Получить и охарактеризовать экспериментальные стандартные диагностические бруцеллезные кроличьи сыворотки для разработки национального стандарта бруцеллезной сыворотки. **Материалы и методы.** Для получения положительных стандартных сывороток против возбудителей бруцеллеза использованы 12 кроликов весом от 2,2 кг до 4,6 кг в возрасте от 6 до 12 месяцев. Животных содержали в одинаковых условиях на стандартном рационе вивария. Для проведения эксперимента брали адаптированных к условиям опыта животных, которых находились в карантине в течение 21 дня. Содержание и проведение исследований осуществляли согласно международным правилам гуманного обращения с животными. **Результаты и обсуждение.** На этапе оценки гетерологической специфичности полученных сывороток на 23 коллекционных и госпитальных штаммах в 16,7% случаев был установлен слабо положительный ответ (+). Выявлено достоверное повышение уровня общего белка после первой и 4-й прививок. Если до первой прививки уровень общего белка составил 59,57 г/л, то после четвертой он повысился в более чем в два с половиной раза (157,17 г/л). Также было отмечено увеличение содержания альбумина и глобулина (33,2 г/л и 26,37 г/л соответственно) до 79,37 г/л и 77,43 г/л соответственно. После первой прививки уровень IgM оставался практически неизменным. Уровень IgM после второй прививки увеличился в 3,5 раза, а после четвертой снизился до 0,24 мг/мл. Выявлено повышение уровня IgG после проведенной второй и третьей прививок, а после четвертой – понижение. Был сформирован банк диагностических кроличьих противобруцеллезных сывороток – кандидатов национальной и отраслевой референс-сыворотки. Всего – 72 варианта. **Вывод.** Получены национальные и отраслевые стандартные диагностические поливалентные бруцеллезные сыворотки, а также разработаны методы лабораторного контроля их качества и эффективности, что позволит изготовить кандидат-стандартные образцы (СО) сывороток для РА и выявления штаммов *Brucella*. Полученные СО в дальнейшем будут использованы для контроля производимых иммунобиологических диагностических препаратов и обеспечения унифицированных требований к их качеству. Таким образом достигнута цель – совершенствование серологической диагностики бруцеллеза, заложена основа для дальнейшего изучения и проведения стандартизации сыворотки.

Ключевые слова: бруцеллез, *Brucella abortus* 19, гипериммунизация, стандартная сыворотка, альбумин, глобулин, IgA, IgM, IgG, реакция Хеддельсона, реакция Райта
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Туйчиев Л. Н., Таджиев Б. М., Таджиева Н. У. и др. Получение и характеристика экспериментальных диагностических бруцеллезных кроличьих сывороток для разработки национального стандарта бруцеллезной сыворотки. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2024;23(3):120-128 <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-120-128>

* Для переписки: Таджиева Нигора Убайдуллаевна, д. м. н., доцент, заместитель директора по научной работе Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных болезней, 100151, Узбекистан, г. Ташкент, ул. Заковат, д. 2. +998-71-243-3605, +998-90-355-5171, n.tadjieva17091973@gmail.com. ©Туйчиев Л. Н. и др.

Obtaining and Characterization of Experimental Diagnostic Brucellosis Rabbit Sera for the Development of a National Standard for Brucellosis SerumLN Tuychiev^{1,2}, BM Tadjiev¹, NU Tadjieva^{*1,2}, OSh Kasimov¹, AM-T Bektimirov¹, AP Yusupov¹, JA Anvarov^{1,2}, BV Shukurov²¹ Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases Ministry of Health of Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan² Tashkent Medical Academy, Tashkent, Republic of Uzbekistan**Abstract**

Relevance. The production of brucellosis diagnosticums is currently being established in the medical and veterinary practice of the Republic of Uzbekistan. However, due to the lack of a national standard serum in the country and the high cost of analog standard serums on the market, problems may arise in the production of diagnostic tools. In addition, the lack of national standard serums causes problems in quality control of commercial and local antigens, hinders the development of local drugs – brucellosis diagnostics, which reduces the effectiveness of serological diagnosis of brucellosis in humans and animals. Given the above, it becomes necessary to develop and produce a standard serum with a high level of safety, which will improve the methods of laboratory diagnosis of various forms of brucellosis in patients and animals to identify hidden foci of infection in Uzbekistan. The aim of the study is to obtain and characterize experimental standard diagnostic brucellosis rabbit sera for the development of national and industry standard serum with appropriate titers. **Materials and Methods.** The experiments were carried out in full compliance with the European Council Directive 2010/63/EU on compliance with ethical principles in working with laboratory animals and the experiments were carried out on the basis of the methodological manual «Methods and rules of work» approved by the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan in 2016 with laboratory animals in experimental microbiological and immunological studies. To obtain positive standard sera against brucellosis pathogens, 12 rabbits weighing from 2.2 kg to 4.6 kg, aged 6 to 12 months, were used. The animals were kept under identical conditions on a standard vivarium diet. For the experiment, animals adapted to the conditions of the study were selected and kept in quarantine for 21 days. The maintenance and conduct of the studies followed international rules for the humane treatment of animals. **Results and Discussion.** During the evaluation of the heterologic specificity of the obtained sera for 23 collection and hospital strains, a weakly positive response (+) was observed in 16.7% of cases. Rabbit sera positive for heterologic specificity were adsorbed on suspensions of inactivated microorganisms (*Citrobacter* spp. and *Enterobacteriaceae* spp.) - no significant drop in titer was observed, and cross-agglutination was eliminated. A significant increase in the total protein level was noted after the first and fourth immunizations. Before the first immunization, the total protein level was 59.57 g/l, and after the fourth immunization, it increased threefold to 157.17 g/l. There was also an increase in albumin and globulin (33.2 g/L and 26.37 g/L, respectively) to 79.37 g/L and 77.43 g/L, respectively. IgM levels remained almost unchanged, increasing 3.5-fold after the second immunization and decreasing to 0.24 mg/ml after the fourth immunization. An increase in the level of IgG after the second and third immunizations was revealed, followed by a decrease after the fourth immunization. **Conclusion.** The obtained national and industry standard diagnostic polyvalent brucellosis sera, as well as the developed methods of laboratory control of its quality and efficiency testing will make it possible to produce candidate standard serum samples for agglutination reaction test and detection of *Brucella* strains. The obtained standard serum samples will be further used for control of the produced immunobiological diagnostic preparations and provision of unified requirements to their quality. The goal was achieved – improving the serological diagnosis of brucellosis, laying the foundation for further study and standardization of serum.

Keywords: brucellosis, *Brucella abortus* 19, hyper immunization, standard serum, albumin, globulin, IgA, IgM, IgG, Hedderson reaction, Wright reaction

No conflict of interest to declare.

For citation: Tuychiev LN, Tadjiev BM, Tadjieva NU et al. Obtaining and characterization of experimental diagnostic brucellosis rabbit sera for the development of a national standard for brucellosis serum. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(3):120-128 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2024-23-3-120-128>

Введение

Бруцеллез – одно из распространенных заболеваний, поражающих как людей, так и животных. Он регистрируется во многих регионах мира, включая Латинскую Америку, Ближний Восток, Средиземноморский бассейн, Африку и Азию [1,2]. По данным ВОЗ, ежегодно в мире фиксируется более полумиллиона новых случаев заражения. Бруцелла может передаваться человеку несколькими путями, включая употребление непастеризованных молочных продуктов, вдыхание микроорганизма, а также через кожу. Поскольку

клинические симптомы бруцеллеза человека различны и неспецифичны, диагностика инфекции основана на результатах лабораторных исследований. Существуют различные методы диагностики бруцеллеза у людей, и в настоящее время для этой цели широко используются молекулярно-генетические, серологические и микробиологические тесты. Посев крови является золотым стандартом для выявления бруцелл, но этот метод требует много времени, увеличивает риск инфицирования людей и чувствителен только в случае остросептических форм (регистрируются в 15–70% случаев)

* For correspondence: Tadjieva Nigora Ub., Dr. Sci. (Med.), Associate Professor Deputy Director for Science of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases, 2, Zakovat str., Tashkent, 100151, Uzbekistan. +998-71-243-3605, +998-90-355-5171, n.tadjieva17091973@gmail.com. ©Tuychiev LN, et al.

[1–3]. Кроме того, этот метод требует определенной квалификации персонала и высокого уровня безопасности. Серологические методы исследования довольно широко применяются во всем мире, в том числе и в Узбекистане.

В Республике Узбекистан для мониторинга заболеваемости бруцеллезом среди людей и животных используются различные лабораторные методы диагностики, однако в некоторых регионах страны заболеваемость остается довольно высокой, что требует усовершенствования эпиднадзора, как среди людей, так и среди животных. Это позволит своевременно выявлять активные эпизоотические и эпидемические очаги бруцеллеза, повысить качество и эффективность комплекса противоэпидемических мероприятий.

Использование диагностических лабораторных методов обследования имеет важное значение для эффективного контроля эндемичных по бруцеллезу районов. В условиях города, где эндемичность бруцеллеза не так высока, как в сельских районах, вопросы ранней диагностики также приобретают особую актуальность, что связано с разнообразием клинических признаков бруцеллеза, сходства его клинического течения с другими заболеваниями, отсутствием строго специфических симптомов, что часто вызывает затруднения в постановке диагноза «Бруцеллез» без проведения специфического исследования. Часто такие ситуации возникают при неполном сборе анамнеза, отсутствии кардинальных симптомов заболевания, при супер- и реинфекции, развитии рецидивов и латентных формах инфекции [4–6].

На сегодняшний день одним из надежных методов в диагностике бруцеллеза, как у людей, так и у животных, являются серологические тесты. Из серологических методов для диагностики бруцеллеза у людей в настоящее время используют реакции агглютинации Хеддельсона, Райта, пассивной гемагглютинации и Кумбса (непрямой антиглобулиновый тест) и др. При этом реакция агглютинации Хеддельсона считается наиболее чувствительной, нежели реакция Райта, но менее специфичной. Отрицательные результаты в реакции агглютинации Хеддельсона свидетельствуют об отсутствии активности бруцелл, но положительные не всегда достаточно надежно подтверждают диагноз «Бруцеллез». Реакция агглютинации Райта является высокоспецифичной и при титрах 1:50 и выше с высокой степенью достоверности выявляет заболеваемость бруцеллезом. У животных из серологических реакций используют: тест Розбенгала, реакцию агглютинации и реакцию связывания комплемента [7–10]. С целью стандартизации и повышения эффективности вышеизложенных методов, в соответствии с требованиями и рекомендациями Ассоциации экспертов ФАО/ВОЗ по биологической стандартизации, в каждой стране должна использоваться своя собственная индивидуальная национальная стандартная сыворотка

с соответствующим титром, который выражается в международных единицах (МЕ/мл) [4,11].

В медицинской и ветеринарной практике Республики Узбекистан в настоящее время происходит налаживание производства бруцеллезных диагностикумов. Однако ввиду отсутствия национальной стандартной сыворотки в стране и высокой стоимости аналоговых стандартных сывороток на рынке могут возникнуть проблемы в производстве диагностических средств. Кроме того, отсутствие национальных стандартных сывороток вызывает проблемы в контроле качества коммерческих и местных антигенов, препятствует разработке бруцеллезных диагностикумов, что снижает эффективность серодиагностики бруцеллеза у людей и животных [2,12,13].

Учитывая вышеуказанное, в Республике Узбекистан существует необходимость в разработке и производстве национальной стандартизированной сыворотки с высоким уровнем специфичности и чувствительности, что позволит усовершенствовать методы лабораторной диагностики различных форм бруцеллеза у больных людей и животных, а также для выявления скрытых очагов инфекции на территории страны.

Цель исследования – получение и характеристика экспериментальных диагностических бруцеллезных кроличьих сывороток для разработки национального стандарта.

Материал и методы

Эксперименты осуществлялись в полном соответствии с Директивой Европейского Совета (The European Council Directive 2010/63/EU) по соблюдению этических принципов в работе с лабораторными животными и на основании утвержденного Министерством здравоохранения Республики Узбекистан в 2016 г. методического пособия «Методика и правила работы с лабораторными животными при экспериментальных микробиологических и иммунологических исследованиях».

Для получения стандартных сывороток против возбудителей бруцеллеза использованы 12 кроликов весом от 2,2 кг до 4,6 кг в возрасте от 6,0 до 12 месяцев. Животных содержали в одинаковых условиях на стандартном рационе вивария. Для проведения эксперимента брали адаптированных к условиям опыта животных, которых находились в карантине в течение 21 дня. Содержание и проведение исследований осуществляли согласно международным правилам гуманного обращения с животными.

Иммунизацию кроликов проводили живой вакциной против бруцеллеза сельскохозяйственных животных в концентрации 4×10^{10} живых микробных клеток (м.к.) *Brucella abortus* 19 в 1 мл восстановленного препарата (лиофилизат для приготовления суспензии). Кроликов (порода Шиншилла, полученные из лицензированного питомника-вивария)

разделили на 4 сопоставимые по полу, возрасту, весу группы по три особи в каждой в соответствии с запланированной схемой иммунизации (см. ниже). Экспериментальных животных подвергали гипериммунизации в дозе 4 миллиарда м. к. вакцинного штамма *Brucella abortus* 19, 4-кратно, с интервалом в 7 дней. Через 13 дней после последней, 4-й гипериммунизации был произведен забор крови.

Каждому кролику из 1-й группы 4-кратно вводили живую вакцину *Brucella abortus* 19 с концентрацией соответствующей 4 миллиардам микробов вакцинного штамма.

Кроликам из 2-й группы 2-я и 3-я иммунизации проводились аналогично кроликам 1-й группы, а 1-я и 4-я иммунизация – той же вакциной, но с неполным адъювантом Фрейнда (НПАФ готовился путем добавления в 6 мл вазелинового масла и 2, 0 мл БЦЖ вакцины).

В 3-й группе кроликам вводилась суспензия инактивированной культуры бруцелл в концентрации 1 миллиард микроба (по стандарту Мак-Фарланда) 2-кратно, 3-я иммунизация – с концентрацией в 4 миллиарда, 4-я иммунизация – живой вакциной *B. abortus* 19 с концентрацией микробов вакцинного штамма соответствующей 4 миллиардам.

Кроликам из 4-й группы вводились: во время 1-й иммунизации – суспензия инактивированной культуры бруцелл в концентрации 1 миллиард совместно с НПАФ, во 2-ю иммунизацию – суспензия инактивированной культуры бруцелл в концентрации 1 миллиард, в 3-ю иммунизацию – в концентрации 4 миллиарда, а при 4-й иммунизации – живая вакцина *B. abortus* 19 с концентрацией микробов вакцинного штамма, соответствующей 4 миллиардам.

Всем кроликам введение антигена (живая вакцина или суспензия инактивированной культуры бруцелл) осуществлялось в общей сложности в 8 точках (1–4 точки – проводилось подкожно, 5–8 точки – внутримышечно).

Бактериологический метод. Проводили культивирование вакцинного штамма *B. abortus* 19, его инактивацию, оценку стерильности, определение концентрации клеток бруцелл и возможности их использования для иммунизации экспериментальных животных.

Серологический метод. Осуществлялся на основании 12-го приложения (методическая инструкция по лабораторной диагностике бруцеллеза) приказа МЗ РУЗ №177 от 1 мая 2015 года «О совершенствовании лабораторных методов, проводимых в лабораториях бактериологических, вирусологических и особо опасных инфекционных заболеваний».

Иммунологические исследования. Иммуноферментным методом идентифицировали иммуноглобулины классов А, М и G против возбудителей бруцеллеза с использованием набора реагентов Вектор БЕСТ (г. Новосибирск, РФ). В литературе описана некоторая антигенная схожесть антител

млекопитающих [14–16]. В работах, выполненных в РФ [17], использовались «Сыворотки моноспецифические против IgG, IgA, IgM человека фирмы «ИмБио» (Россия, Москва)» с целью определения диапазона концентраций IgG, IgA и IgM в сыворотке крови здоровых *Macaca mulatta*. Используемые в ряде научных работ наборы реагентов на основе антител к иммуноглобулинам человека позволяют приближенно определить концентрации IgG, IgA, IgM в сыворотке крови *Macaca mulatta* [18].

Определение уровня общего белка, альбумина и глобулина проводилось колориметрическим методом на биохимическом анализаторе «Mindray» BA-88A (Китай) в соответствии с инструкцией производителя.

Полученные данные 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 достоверными 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 $p < 0,05$.

В соответствии с «Ветеринарно-санитарными правилами сбора, утилизации и обезвреживания биологических отходов», утвержденными постановлением Государственного комитета по развитию ветеринарии и животноводства от 14 октября 2019 года №13, 12 (100%) кролики, использованные в эксперименте, были уничтожены путем сжигания при высокой температуре 700 °С в специальной печи крематория, расположенного в научном центре Фармако-токсикологии и вивария.

Результаты и обсуждение

Перед проведением гипериммунизации экспериментальных кроликов их сыворотка крови подлежала серологическому (использование реакции Райта-Хеддельсона) и иммунологическому исследованию на бруцеллез (идентификация IgA, IgM и IgG иммуноферментным методом). Кроме этого, у кроликов определяли уровень общего белка, альбумина, глобулина и соотношение альбумина к глобулину. Эти показатели служили маркерами и характеризовали сыворотку для дальнейшего скрининга и получения отраслевой стандартной диагностической противобруцеллезной сыворотки.

За день до проведения каждой гипериммунизации сыворотку крови экспериментальных животных исследовали с использованием вышеупомянутых серологических и иммунологических реакций.

Был сформирован банк диагностических кроличьих противобруцеллезных сывороток – кандидатов национальной и отраслевой референс-сыворотки. Всего – 72 варианта.

Сыворотку крови от каждого экспериментального животного инаktivировали на водяной бане при температуре 56 °С в течение 30 минут, консервировали мертиолятом натрия в концентрации в соотношении 1:10 000, разливали в отдельные стерильные ампулы. С целью проведения серологических и иммунологических исследований одну часть сыворотки поместили в холодильники с температурой 2–8 °С, а вторая часть сыворотки для последующего использования хранилась в морозильных камерах при температуре -20 °С.

Оценка специфичности и чувствительности сыворотки в гетерологичных микроорганизмах.

Сыворотка, полученная в результате гипериммунизации, может давать перекрестную реакцию агглютинации с антигенами возбудителей других инфекционных заболеваний, что, в свою очередь, может стать причиной ошибочной идентификации выделенного штамма. Поэтому для выявления особенностей и специфичности сыворотки важно проверить ее гетерологическую специфичность.

Специфичность сывороток, полученных в результате эксперимента, была изучена с использованием 24 клинических штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов, проходящих лечение с диагнозами «Острая диарея», «Острая кишечная инфекция», в бактериологической лаборатории клиники, которая расположена на базе Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний МЗ РУз.

Сыворотки крови исследовались методом реакции агглютинации на предметном стекле до иммунизации, во время проведения гипериммунизации, а также при заборе крови. В результате проведенных исследований с грамотрицательными бактериями (*Citrobacter spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*) в 16,7% случаях был установлен слабоположительный ответ (+). Далее со слабоположительными сыворотками крови проводили реакции агглютинации в пробирках с добавлением суспензии тех же инаktivированных микроорганизмов (*Citrobacter spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*). Были получены отрицательные результаты.

Также были проведены биохимические и иммунологические исследования гипериммунных сывороток. Результаты данных исследований представлены в таблицах 1–4. Установлено достоверное повышение уровня общего белка после первой и четвертой иммунизаций (табл. 1). Если до первой иммунизации уровень общего белка составлял 59,57 г/л, то после четырех иммунизаций он повысился в три раза – 157,17 г/л. Также было установлено увеличение содержания альбумина и глобулина (с 33,2 г/л и 26,37 г/л соответственно до 79,37 г/л и 77,43 г/л соответственно). После первой иммунизации уровень IgM оставался практически неизменным. Уровень IgM при второй иммунизации увеличился в 3,5 раза, а после

четвертой снизился до 0,24 мг/мл. Выявлено повышение уровня IgG после 2-й и 3-й иммунизаций и снижение после четвертой.

Таким образом, при многократной иммунизации увеличение уровня общего белка, альбумина, глобулина, IgM и IgG свидетельствует о формировании традиционного (характерного) иммунного ответа на антигены (увеличение уровня IgM на первой неделе – первичный иммунный ответ, а увеличение уровня IgG со второй недели соответствует вторичному иммунному ответу).

В таблице 2 приведены результаты исследования сыворотки крови кроликов 2-й группы. У них выявлены аналогичные изменения уровня общего белка, альбумина, глобулина и IgA. Однако стоит отметить, что в этой группе уровень общего белка, альбумина, глобулина, Ig M и IgG сразу после 4-й иммунизации и спустя 13 дней, по сравнению с первой группой, соответствует в динамике первичному и вторичному иммунному ответу. При этом содержание IgG в сыворотке крови выше, чем у кроликов первой группы. Следовательно, использование НПАФ приводит к формированию стабильного иммунного ответа.

В таблице 3 представлены результаты исследования сыворотки крови животных 3-й группы, иммунизированных суспензией инаktivированной культуры бруцелл. Изменение показателей общего белка, альбумина, глобулина и IgA у животных этой группы имело ту же тенденцию, что и у животных 1-й и 2-й групп – их уровень повысился. Уровень IgM и IgG был ниже в сравнении с 1-й и 2-й группами, но в последующем уровень IgM после 2-й иммунизации повысился в два раза (7–14 дни первичного иммунного ответа). При этом установлено повышение уровня IgG на второй и третьей неделе после иммунизации (вторичный иммунный ответ), а после 4-й иммунизации зафиксировано снижение уровня IgG.

В таблице 4 отражены результаты исследования сыворотки крови гипериммунизированных животных 4-й группы. Анализ показателей общего белка, альбумина, глобулинов, IgA, IgM и IgG сыворотки крови животных этой группы выявил аналогичную тенденцию изменения их уровней, как и в 1-й, 2-й и 3-й группах.

Таким образом, после гипериммунизации экспериментальных животных 4-й группы (суспензия инаktivированной культуры бруцелл + НПАФ) формировался иммунный ответ. Однако уровень IgG после 4-й иммунизации снизился и сравнивался с первоначальным через 13 дней после последней иммунизации.

В результате гипериммунизации животных вакцинным штаммом живых *B. abortus* 19 и суспензией инаktivированных бруцелл установлена выработка стойкого и длительного иммунного ответа (в течение периода наблюдения). Следовательно, для получения полноценной активной гипериммунной сыворотки желательное использование этого вакцинного штамма.

Таблица 1. Результаты иммунизации экспериментальных животных первой группы

Table 1 Results of immunization of experimental animals of the first group

Показатели Indicators	До им- муни- зации Before immu- nization	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		Через 13 дней после последней иммунизации 13 days after the last immunization	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	59,57 ± 6,16	84,37 ± 4,4	p = 0,04	96,4 ± 4,3	p = 0,02	154,57 ± 17,5	p = 0,01	157,17 ± 8,7	p = 0,002	118,03 ± 4,7	p = 0,004
Альбумин, г/л Albumin, g/l	33,2 ± 2,37	41,27 ± 3,4	p = 0,14	47,37 ± 4,01	p = 0,05	62,9 ± 5,05	p = 0,01	79,73 ± 4,4	p = 0,002	58,95 ± 3,5	p = 0,008
Глобулин, г/л Globulin, g/l	26,37 ± 4,52	43,10 ± 1,6	p = 0,04	51,67 ± 2,1	p = 0,01	101,7 ± 10,5	p = 0,007	77,43 ± 4,5	p = 0,004	58,77 ± 2,6	p = 0,008
A/G, г/л A/G, g/l	1,27 ± 0,16	0,95 ± 0,07	p = 0,16	0,91 ± 0,07	p = 0,13	0,62 ± 0,11	p = 0,04	1,03 ± 0,03	p = 0,23	1,0 ± 0,03	p = 0,19
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,25 ± 0,01	0,2 ± 0,01	p = 0,03	0,28 ± 0,05	p = 0,59	0,2 ± 0,04	p = 0,31	0,16 ± 0,001	p = 0,002	0,15 ± 0,01	p = 0,005
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,31 ± 0,001	0,69 ± 0,17	p = 0,11	1,12 ± 0,04	p = 0,0002	0,58 ± 0,22	p = 0,3	0,24 ± 0,09	p = 0,4	0,34 ± 0,14	p = 0,8
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	2,18 ± 0,06	2,06 ± 0,2	p = 0,6	4,21 ± 0,04	p = 0,0001	4,24 ± 0,4	p = 0,01	1,31 ± 0,25	p = 0,04	1,28 ± 0,21	p = 0,02

Примечание: p < 0,05, достоверность различий с показателями до иммунизации и после иммунизации.

Note: p < 0.05, reliability of differences with indicators before immunization and after immunization.

Таблица 2. Результаты иммунизации экспериментальных животных второй группы

Table 2. Results of immunization of experimental animals of the second group

Показатели Indicators	До им- муни- зации Before immu- nization	После 1-й иммуниза- ции After 1 st immunization		После 2-й иммуниза- ции After 2 nd immunization		После 3-й иммуниза- ции After 3 rd immunization		После 4-й иммуниза- ции After 4 th immunization		Через 13 дней после послед- ней иммуниза- ции 13 days after the last immunization	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	59,5 ± 7,83	81,3 ± 14,67	p = 0,28	75,43 ± 19,31	p = 0,50	154,03 ± 11,97	p = 0,007	167,77 ± 12,64	p = 0,005	134,1 ± 5,88	p = 0,004
Альбумин, г/л Albumin, g/l	34,67 ± 5,07	41,2 ± 6,74	p = 0,49	35,2 ± 6,8	p = 0,95	69,3 ± 2,9	p = 0,009	82,57 ± 6,08	p = 0,009	66,27 ± 2,49	p = 0,01
Глобулин, г/л Globulin, g/l	24,53 ± 2,76	40,1 ± 8,73	p = 0,18	40,23 ± 12,53	p = 0,30	84,73 ± 13,39	p = 0,02	85,47 ± 6,46	p = 0,003	67,83 ± 3,39	p = 0,002
A/G, г/л A/G, g/l	1,4 ± 0,11	0,91 ± 0,05	p = 0,02	0,94 ± 0,17	p = 0,1	0,84 ± 0,14	p = 0,05	0,96 ± 0,01	p = 0,02	0,97 ± 0,01	p = 0,03
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,24 ± 0,001	0,23 ± 0,04	p = 0,81	0,26 ± 0,03	p = 0,55	0,23 ± 0,03	p = 0,76	0,17 ± 0,01	p = 0,006	0,16 ± 0,01	p = 0,004
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,37 ± 0,01	1 ± 0,08	p = 0,004	1,11 ± 0,01	p = 0,0001	0,69 ± 0,16	p = 0,13	0,47 ± 0,001	p = 0,002	0,35 ± 0,21	p = 0,93
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	2,21 ± 0,25	3,45 ± 0,58	p = 0,14	4,7 ± 0,18	p = 0,05	5,26 ± 0,27	p = 0,003	1,94 ± 0,03	p = 0,36	1,6 ± 0,35	p = 0,25

Примечание: p < 0,05, достоверность различий с показателями до иммунизации и после иммунизации

Note: p < 0.05, reliability of differences with indicators before immunization and after immunization

Таблица 3. Результаты иммунизации экспериментальных животных третьей группы

Table 3. Results of immunization of experimental animals of the third group

Показатели Indicators	До им- муни- зации 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		Через 13 дней после последней иммунизации 13 days after the last immunization	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	P
Общий белок, г/л Total protein, g/l	57,00 ± 3,47	71,83 ± 4,76	p = 0,08	83,4 ± 3,40	p = 0,01	134,9 ± 13,63	p = 0,01	149,77 ± 13,62	p = 0,007	114,03 ± 16,88	p = 0,04
Альбумин, г/л albumin, g/l	29,30 ± 1,35	35,63 ± 2,92	p = 0,14	36,13 ± 6,45	p = 0,37	64,77 ± 5,84	p = 0,009	75,25 ± 9,35	p = 0,01	59,67 ± 10,13	p = 0,05
Глобулин, г/л Globulin, g/l	27,7 ± 2,29	36,2 ± 2,29	p = 0,07	47,27 ± 7,73	p = 0,09	70,3 ± 8,68	p = 0,01	76,23 ± 6,7	p = 0,006	54,7 ± 6,79	p = 0,03
A/G, г/л A/G, g/l	1,06 ± 0,6	0,98 ± 0,06	p = 0,9	0,51 ± 0,32	p = 0,47	0,93 ± 0,08	p = 0,8	0,96 ± 0,8	p = 0,13	1,08 ± 0,06	p = 0,97
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,18 ± 0,01	0,20 ± 0,02	p = 0,43	0,18 ± 0,01	p = 1,0	0,18 ± 0,01	p = 1,0	0,15 ± 0,01	p = 0,12	0,14 ± 0,01	p = 0,06
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,43 ± 0,12	0,97 ± 0,15	p = 0,06	0,82 ± 0,18	p = 0,16	0,45 ± 0,02	p = 0,87	0,49 ± 0,20	p = 0,81	0,32 ± 0,02	p = 0,43
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	1,98 ± 0,19	3,59 ± 0,18	p = 0,008	4,44 ± 0,61	p = 0,03	4,46 ± 0,42	p = 0,01	1,64 ± 0,35	p = 0,45	1,45 ± 0,47	p = 0,37

Примечание: p < 0,05, достоверность различий с показателями до иммунизации и после иммунизации
Note: p < 0.05, reliability of differences with indicators before immunization and after immunization

Таблица 4. Результаты иммунизации экспериментальных животных четвертой группы

Table 4. Results of immunization of experimental animals of the fourth group

Показатели Indicators	До им- муни- зации 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		Через 13 дней после последней иммунизации 13 days after the last immunization	
	M ± m	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	P
Общий белок, г/л Total protein, g/l	61,23 ± 1,01	81,53 ± 6,23	p = 0,04	99,57 ± 10,64	p = 0,03	140,7 ± 4,67	p = 0,0004	148,57 ± 6,54	p = 0,0009	130,77 ± 1,56	p = 0,00004
Альбумин, г/л Albumin, g/l	33,03 ± 2,86	39,10 ± 1,90	p = 0,17	50,33 ± 4,64	p = 0,05	66,7 ± 5,55	p = 0,01	70,07 ± 4,43	p = 0,005	66,8 ± 1,41	p = 0,001
Глобулин, г/л Globulin, g/l	28,2 ± 2,45	42,43 ± 4,50	p = 0,06	49,23 ± 6,07	p = 0,04	73,9 ± 3,36	p = 0,001	78,50 ± 3,20	p = 0,001	64,07 ± 2,90	p = 0,002
A/G, г/л A/G, g/l	1,19 ± 0,19	0,93 ± 0,07	p = 0,28	1,02 ± 0,04	p = 0,44	0,90 ± 0,1	p = 0,26	0,89 ± 0,05	p = 0,22	1,04 ± 0,07	p = 0,5
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,16 ± 0,02	0,18 ± 0,04	p = 0,68	0,18 ± 0,08	p = 0,82	0,14 ± 0,01	p = 0,43	0,16 ± 0,01	p = 1,0	0,14 ± 0,01	p = 0,43
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,30 ± 0,05	0,93 ± 0,15	p = 0,02	0,50 ± 0,10	p = 0,17	0,57 ± 0,09	p = 0,07	0,33 ± 0,05	p = 0,69	0,45 ± 0,15	p = 0,41
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	1,70 ± 0,06	3,47 ± 0,21	p = 0,003	5,70 ± 0,16	p = 0,0001	4,31 ± 0,31	p = 0,003	1,37 ± 0,23	p = 0,25	1,81 ± 0,15	p = 0,54

Примечание: p < 0,05, достоверность различий с показателями до иммунизации и после иммунизации
Note: p < 0.05, reliability of differences with indicators before immunization and after immunization

Основная цель исследования – получение гипериммунной сыворотки для стандартизации и совершенствования серодиагностики бруцеллеза, а также создание стандартной диагностической сыворотки для выявления возбудителей бруцеллеза.

Определение титра гипериммунной сыворотки проводили посредством реакции Райта, результаты исследования представлены в таблице 5.

После первой иммунизации живой вакциной *B. abortus* 19 увеличение титра антител

Таблица 5. Результаты реакции Райта по среднему геометрическому титров антител
Table 5. Results of the Wright reaction on the geometric mean titer of antibody

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	Через 13 дней после последней иммунизации 13 days after the last immunization
Результаты иммунизации экспериментальных животных первой группы Results of immunization of experimental animals of the first group					
0	1: 800	1: 2015	1: 2540	1:1600	1:1008
Результаты иммунизации экспериментальных животных второй группы Results of immunization of experimental animals of the second group					
0	1: 800	1: 1270	1: 1270	1:1008	1: 635
Результаты иммунизации экспериментальных животных третьей группы Results of immunization of experimental animals of the third group					
0	1: 63	1: 100	1: 79	1:200	1: 200
Результаты иммунизации экспериментальных животных четвертой группы Results of immunization of experimental animals of the fourth group					
0	1: 63	1: 79	100	1: 126	1: 159

наблюдалось со второй недели со стабильными уровнем в течение 41 дня. Титр антител в сыворотке крови животных 3-й и 4-й групп после иммунизации суспензией инактивированных бруцелл в динамике был равен титру в первой группе, но при этом значительно ниже, чем при иммунизации живой вакциной *B. abortus* 19.

Таким образом, было получено достаточное количество сывороток, которые будут предложены в качестве стандартных для выявления возбудителей бруцеллеза.

Заключение

1. При многократной иммунизации увеличение уровня общего белка, альбумина, глобулина, IgM и IgG свидетельствует о формировании традиционного (характерного) иммунного ответа на антигены (увеличение уровня IgM на первой неделе – первичный иммунный ответ, а увеличение уровня IgG со второй недели соответствует вторичному иммунному ответу).
2. Использование неполного адьюванта Фрейнда приводит к формированию стабильного иммунного ответа.
3. Иммунизации вакцинным штаммом *B. abortus* 19 и суспензией инактивированной бруцелл вызывали более стойкий и длительный иммунный ответ в течение всего периода наблюдения.
4. Титр антител сыворотки крови у экспериментальных животных 3-й и 4-й групп, иммунизированных суспензией инактивированной культуры бруцелл, в динамике был на таком же уровне, как и в первой группе, но был значительно ниже, чем при иммунизации живой вакциной *B. abortus* 19.
5. Для получения полноценной, активной гипериммунной сыворотки необходимо использование живого вакцинного штамма *B. abortus* 19.

Полученные национальные и отраслевые стандартные диагностические поливалентные бруцеллезные сыворотки, а также разработанные методы лабораторного контроля их качества и эффективности позволяют изготовить кандидат-стандартные образцы (СО) сыворотки для РА и выявления штаммов *Brucella*. Полученные СО в дальнейшем будут использованы для контроля производимых иммунобиологических диагностических препаратов и обеспечения унифицированных требований к их качеству.

Таким образом достигнута цель – совершенствование серологической диагностики бруцеллеза, заложена основа дальнейшего изучения и проведения стандартизации сыворотки.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного гранта №IZ-202006174 «Разработка технологии получения поливалентных сывороток для диагностики лихорадочных инфекционных заболеваний (бруцеллез, иерсиниоз, брюшной тиф, паратиф)».

Funding. The study was carried out within the framework of the state grant №IZ-202006174 «Development of technology for the production of polyvalent serums for detection pathogens of febrile infectious diseases (brucellosis, yersiniosis, typhoid fever, paratyphoid)».

The experiments were carried out in full compliance with the European Council Directive 2010/63/EU on compliance with ethical principles in working with laboratory animals and the experiments were carried out on the basis of the methodological manual “Methods and rules of work” approved by the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan in 2016 with laboratory animals in experimental microbiological and immunological studies”.

Литература

1. Бруцеллез. Современное состояние проблемы. Монография. Онищенко Г. Г., Куличенко А. Н., ред. Ставрополь: ООО «Губерния»; 2019.
2. Игамбердиева С. Д., Ахмедова Х. Ю. Настоящие и возможные перспективы в диагностике бруцеллеза. Инфекция, иммунитет и фармакология. 2011. № 4–5. С. 95–98.
3. Пономаренко Д. Г., Скюдарева О. Н., Хачатурова А. А. и др. Бруцеллез: тенденции развития ситуации в мире и прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. Проблемы особо опасных инфекций. 2022. № 2. С. 36–45. doi.org/10.21055/0370-1069-2022-2-36-45
4. Дегтяренко Л. В., Карлова М. Ю., Каликин И. Н. Диагностическая эффективность R-бруцеллезных антигенов при бруцеллезе крупного рогатого скота. Достижения науки и техники АПК. 2011. № 9. С. 57–61.
5. Ковтун Ю. С., Курилова А. А., Катунина Л. С. и др. Питательные среды для диагностики бруцеллеза. Проблемы особо опасных инфекций. 2019. № 4. С. 17–25. doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-17-25
6. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infect Ecol Epidemiol. 2018. Vol. 8, N1.:1500846 doi:10.1080/2008686.2018. 1500846
7. Дегтяренко Л. В., Скляр О. Д., Каликин И. Н. Применение роз бенгал-пробы при дифференциальной поствакцинальной диагностике бруцеллеза крупного рогатого скота // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. № 4. С. 67–69.
8. Димова А. С., Димов С. К., Сизов А. А. и др. Эффективность диагностики бруцеллеза крупного рогатого скота в новой тест-системе ИФА. Ветеринария. 2015. № 8. С. 23–25.
9. Каляпин Д. В., Матович Н. А., Чаус В. Ю. и др. Сравнительное изучение чувствительности серологических тестов при диагностике бруцеллеза животных. Журнал: биотика. 2021. № 2(39). С. 40–44.
10. Diaz R, Casanova A, Ariza J, et al. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. PLoS Negl Trop Dis. 2011. Vol. 5, N4:e950. doi: 10.1371/journal.pntd.0000950.
11. Нурлыгаянова Г., Белоусов В., Варенцова А. и др. Диагностика бруцеллеза животных в Российской Федерации. Журнал: ветеринария сельскохозяйственных животных. 2021. № 8. С. 3–9.
12. Кукина Г. В., Елагин Г. Д., Фоменков О. О. и др. Получение гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам возбудителя бруцеллеза. Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 2. С. 67–71. doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-67-71
13. Михайлов Л. М., Бараникова Н. Л., Токарева Л. Е. и др. Получение моноспецифической бруцеллезной Anti-Abortus сыворотки на основе термоэкстракта из бруцелл в S-форме. Проблемы особо опасных инфекций. 2017. № 2. С. 78–80. doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-78-80
14. Bauer K. Cross-reactions between human and animal plasma proteins. I. The immunological evolution groups (IEG) I and II. Humangenetik. 1970. Vol. 8, N4. С. 325–329. doi:10.1007/BF00280332.
15. Bauer K. Cross-reactions between human and animal plasma proteins. IV. Non-eutherian Mammalia. Humangenetik. 1971. Vol. 13, N1. С. 49–57. doi:10.1007/BF00446413.
16. Esteves MB, Binaghi RA. Antigenic similarities among mammalian immunoglobulins // Immunology. 1972. Vol. 23, N2. С. 137–45.
17. Матуа А. З., Шевцова З. В. Показатели специфического и неспецифического иммунитета у макак-резусов в сравнительно-возрастном аспекте // Кубанский научный медицинский вестник. 2007. № 1–2. С. 98–101.
18. Рубальский Е. О., Смирнова К. Н., Алешкин В. А. и др. Сравнительная характеристика особенностей иммуноглобулинового профиля человека и макак-резусов // Астраханский медицинский журнал. 2016. Том. 11, № 1. С. 38–48.

References

1. Brusellyoz. Sovremennoe sostoyaniye problemy. Monograph. Ed.: Onishchenko GG, Kulichenko AN. Stavropol: Guberniya, 2019 (In Russ).
2. Igamberdiyeva SD, Akhmedova HYU, Nastoyashie i vozmozhnye perspektivy v diagnostike bruselleza. Infeksiya, immunitet i farmakologiya. 2011. - № 4–5: 95–98 (In Russ).
3. Ponomarenko DG, Skudareva ON, Khachaturova AA, et al. Brucellosis: Trends in the Development of Situation in the World and Forecast for 2022 in the Russian Federation. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2022;(2):36–45 (In Russ). doi.org/10.21055/0370-1069-2022-2-36-45
4. Degtyarenko LV, Karlova MYU, Kalikin IN, Diagnosticheskaya effektivnost R-bruselleznix antigenov pri bruselleze krupnogo rogatogo skota. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2011;9:57–61 (In Russ).
5. Kovtun YS, Kurilova AA, Katunina LS, et al. Nutrient Media for Diagnosis of Brucellosis. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2019;4:17–25 (In Russ). doi.org/10.21055/0370-1069-2019-4-17-25
6. Hull NC, Schumaker BA. Comparisons of brucellosis between human and veterinary medicine. Infect Ecol Epidemiol. 2018;8(1):1500846. doi:10.1080/2008686.2018.1500846
7. Degtyarenko LV, Sklyarov OD, Kalikin IN, Primeneniye roz bengal-probi pri differentsialnoy postvaktsinalnoy diagnostike bruselleza krupnogo rogatogo skota. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2015;29(4):67–69 (In Russ).
8. Dimova AS, Dimov SK, Sizov AA, et al. Effektivnost diagnostiki brusellyoza krupnogo rogatogo skota v novoy test-sisteme IFA. Veterinariya. 2015;8:23–25. (In Russ).
9. Kalyadin DV, Matovich NA, Chaus VY, et al. Sravnitelnoye izucheniye chuvstvitelnosti serologicheskix testov pri diagnostike bruselleza zhivotnix. Jurnal: biotika. 2021;2(39):40–44 (In Russ).
10. Diaz R, Casanova A, Ariza J, et al. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5(4):e950. doi: 10.1371/journal.pntd.0000950
11. Nurligayanova G, Belousov V, Varentsova A, et al. Diagnostika bruselleza zhivotnix v Rossiyskoy Federatsii. Jurnal: veterinariya sel'skoxozyaystvennykh zhivotnix. 2021;8:3–9 (In Russ).
12. Kuklina GV, Elagin GD, Fomenkov OO, et al. Manufacturing of hybridomas-producers of monoclonal antibodies to brucellosis agent antigens. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2017;(2):67–71 (In Russ). doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-67-71
13. Mikhailov LM, Barannikova NL, Tokareva LE, et al. Preparation of monospecific brucella anti-abortion serum based on thermoextract from S-form brucella. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2017;(2):78–80 (In Russ). doi.org/10.21055/0370-1069-2017-2-78-80
14. Bauer K. Cross-reactions between human and animal plasma proteins. I. The immunological evolution groups (IEG) I and II. Humangenetik. 1970;8(4):325–9. doi: 10.1007/BF00280332
15. Bauer K. Cross-reactions between human and animal plasma proteins. IV. Non-eutherian Mammalia. Humangenetik. 1971;13(1):49–57. doi: 10.1007/BF00446413
16. Esteves MB, Binaghi RA. Antigenic similarities among mammalian immunoglobulins. Immunology. 1972;23(2):137–45.
17. Matua AZ, Shevtsova ZV, Pokazateli spetsificheskogo i nespeicheskogo immuniteta u makak- rezusov v sravnitelno-vozzrastnom aspekte. Kubanskiy nauchniy meditsinskiy vestnik. 2007;1-2:98–101 (In Russ).
18. Rubalskii EO, Smirnova KN, Aleshkin VA, et al. Comparative characteristics of human and rhesus macaque immunoglobulin profile features. Astrakhan Medical Journal. 2016;11:38–48 (In Russ).

Об авторах

- **Лазиз Надиринович Туйчиев** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии. +998-71-214-83-11, l_tuychiev@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2312-8640.
- **Ботир Мирхашимович Таджиев** – д. м. н., профессор, директор Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней. +998-90-036-14-56, Dr.botir71@mail.ru.
- **Нигора Убайдуллаевна Таджиева** – д. м. н., доцент, заместитель директора по научной работе Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных болезней. n.tadjieva17091973@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8739-6252.
- **Одилжон Шодиевич Касимов** – д. м. н., ведущий научный сотрудник Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней. +998-90-067-75-10, info.niimiz@ssv.uz. ORCID: 0009-0000-2103-3985.
- **Амир Мангу-Темирович Бектимиров** – к. м. н., заведующий лабораторией Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней. +998-90-933-34-59, amtbektimirov@gmail.com. ORCID: 0009-0003-0044-1842.
- **Акмал Пулатович Юсупов** – младший научный сотрудник Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и паразитарных болезней. +998-97-776-7168, akmal.yusupov.1989@mail.ru. ORCID: 0009-0007-4167-5433.
- **Жахонгир Абралович Анваров** – PhD, старший преподаватель кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии. +998-94-626-90-63, tmainfection@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1080-3651.
- **Бахтиер Вакилович Шукуров** – к. м. н., доцент кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентской медицинской академии. +998-93-560-22-71, shukurov64@mail.ru. ORCID: 0009-0007-3649-2165.

Поступила: 15.04.2024. Принята к печати: 02.05.2024.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Laziz N. Tuychiev** – Dr. Sci. (Med.), professor, Head of Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent Medical Academy. +998-71-214-83-11, l_tuychiev@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2312-8640
- **Botir M. Tadjiev** – Dr. Sci. (Med.), professor, director of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. +998-90-036-14-56, Dr.botir71@mail.ru.
- **Nigora U. Tadjieva** – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor Deputy Director for Science of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. n.tadjieva17091973@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8739-6252.
- **Odiljon Sh. Kasimov** – Dr. Sci. (Med.), The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. +998-90-067-75-10, info.niimiz@ssv.uz. ORCID: 0009-0000-2103-3985.
- **Bektimirov Amir A-M.** – Cand. Sci. (Med.), The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. +9890-933-34-59, amtbektimirov@gmail.com. ORCID: 0009-0003-0044-1842.
- **Akmal P. Yusupov** – researcher, The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. +998-97-776-71-68, akmal.yusupov.1989@mail.ru. ORCID: 0009-0007-4167-5433.
- **Jakhongir A. Anvarov** – PhD, Senior lecturer of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent Medical Academy. +998-94-626-90-63, tmainfection@mail.ru. ORCID: 0000-0003-1080-3651. 15.04.2024.
- **Bakhtiyor V. Shukurov** – Cand. Sci. (Med.), associate professor of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent Medical Academy. +998-93-560-22-71, shukurov64@mail.ru. ORCID: 0009-0007-3649-2165.

Received: 15.04.2024. Accepted: 02.05.2024.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.