

Технология получения гипериммунных агглютинирующих сывороток против сальмонелл с использованием различных схем иммунизации и изучение биохимических, иммунологических показателей сывороток

Л. Н. Туйчиев^{1,2}, Б. М. Таджиев^{1,2}, Н. У. Таджиева^{1,2}, А. М-Т. Бектимиров²,
О. Ш. Касимов³, Н. Н. Каримова², Ж. А. Анваров^{*1,2}, А. П. Юсупов⁴

¹Ташкентский государственный медицинский университет, г. Ташкент, Республика Узбекистан

²Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний Министерство здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

³Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток Министерство здравоохранения Республики Узбекистан, г. Ташкент, Республика Узбекистан

⁴Университет Альфраганус, г. Ташкент, Республика Узбекистан

Резюме

Распространенность брюшного тифа и паратифов во всех странах мира является важной проблемой в сфере здравоохранения (а паратиф В, в том числе – для ветеринарии). Использование агглютинирующих диагностических сывороток позволит проводить серологическую идентификацию бактерий рода *Salmonella* в реакции агглютинации. **Цель.** Получение гипериммунных агглютинирующих сывороток против сальмонелл с использованием различных схем иммунизации и исследование биохимических, а также иммунологических показателей этих сывороток. **Материалы и методы.** В качестве материала для иммунизации (при получении гипериммунной антисыворотки) использовались нижеследующие штаммы сальмонелл: *S. typhi* 002140/4446; *S. typhi* 003788/18, *S. typhi* 003909/135, *S. typhi* 003901/418, *S. typhimurium* 004453/11, *S. enteritidis* 000571/867, *S. paratyphi B* 001150/34, *S. anatum* 001022/885, *S. paratyphi A*, 000652/217. Для иммунизации использовались корпускулярные антигены инактивированных штаммов сальмонелл. Проводили исследование гипериммунной сыворотки. Использовались бактериологические, биохимические, серологические и статистические методы. **Результаты.** В результате экспериментальных исследований был создан банк из 72 образцов диагностических сывороток для индикации сальмонелл. При исследовании поливалентных диагностических сывороток наблюдалось повышение уровня общего белка, глобулина, IgA и IgG после 1-, 2- и 3-й иммунизации (на 7-й, 14-й и 21-й день). **Заключение.** Учитывая, что показатели общего белка, альбумина, глобулина и IgG у экспериментальных животных достигали максимума на 28-й день после иммунизации, таким образом спустя 4-й недели можно получить сыворотки с высокой специфической активностью против разных штаммов сальмонелл.

Ключевые слова: брюшной тиф, паратиф А, паратиф В, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, гипериммунизация, диагностическая сыворотка, общий белок, альбумин, глобулин, IgA, IgM, IgG
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: Туйчиев Л. Н., Таджиев Б. М., Таджиева Н. У. и др. Технология получения гипериммунных агглютинирующих сывороток против сальмонелл с использованием различных схем иммунизации и изучение биохимических, иммунологических показателей сывороток. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2025;24(4):77-85. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2025-24-4-77-85>

* Анваров Жахонгир Абралович, PhD, доцент кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентского государственного медицинского университета; младший научный сотрудник Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний, 100109, Республика Узбекистан, г. Ташкент, ул. Фараби, д. 2. +998-94-625-90-63, anvarovjahongir82@gmail.com. ©Туйчиев Л. Н. и др.

Technology for Producing Hyperimmune Agglutinating Sera against Salmonella using Various Immunization Schemes and Studying the Biochemical and Immunological Parameters of the SeraLN Tuychiev^{1,2}, BM Tadjiev^{1,2}, NU Tadjieva^{1,2}, AM-T Bektimirov², OSh Kasimov³, NN Karimova², JA Anvarov^{*1,2}, AP Yusupov⁴¹Tashkent State Medical University, Tashkent, Republic of Uzbekistan²Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan³Tashkent Research Institute of Vaccines and Sera of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Republic of Uzbekistan⁴Alfraganus University, Tashkent, Republic of Uzbekistan**Abstract**

The spread of typhoid and paratyphoid fevers across all countries highlights their significance as a major public health concern (with Paratyphoid B also being relevant for veterinary medicine). The use of agglutinating diagnostic sera enables the serological identification of *Salmonella* bacteria through agglutination reactions. **Purpose** – to produce hyperimmune agglutinating sera against *Salmonella* using various immunization schemes and to study the biochemical and immunological parameters of the obtained serum samples. **Materials and Methods.** The following *Salmonella* strains were used for immunization (in the production of hyperimmune antisera): *S. typhi* 002140/4446, *S. typhi* 003788/18, *S. typhi* 003909/135, *S. typhi* 003901/418, *S. typhimurium* 004453/11, *S. enteritidis* 000571/867, *S. paratyphi B* 001150/34, *S. anatum* 001022/885, *S. paratyphi A* 000652/217. These strains were obtained from the National Collection of Pathogenic Microorganisms (Groups III-IV of human infections) at the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases (RSSPMCEIPD) of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan. Corpuscular antigens of inactivated *Salmonella* strains were used for immunization. The hyperimmune sera were studied using bacteriological, biochemical, serological, and statistical methods. **Results.** Experimental research led to the creation of a bank of 72 diagnostic serum samples for *Salmonella* detection. The study of polyvalent diagnostic sera showed an increase in total protein, globulin, IgA, and IgG levels after the first, second, and third immunizations (on days 7, 14, and 21). **Conclusion.** Given that the levels of total protein, albumin, globulin, and IgG in the experimental animals peaked on day 28 of immunization, sera with high specific activity against various *Salmonella* strains can be obtained after four weeks.

Keywords: typhoid fever, paratyphoid A, paratyphoid B, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, hyperimmunization, diagnostic serum, total protein, albumin, globulin, IgA, IgM, IgG
No conflict of interest to declare.

For citation: Tuychiev LN, Tadjiev BM, Tadjieva NU et al. Technology for producing hyperimmune agglutinating sera against salmonella using various immunization schemes and studying the biochemical and immunological parameters of the sera. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2025;24(4):77-85 (In Russ.). <https://doi:10.31631/2073-3046-2025-24-4-77-85>

Введение

В настоящее время около 70% заболеваний, регистрируемых среди людей, имеют инфекционную этиологию. В условиях роста населения и масштабов миграции по всему миру актуальной задачей является контроль за инфекционными заболеваниями [1]. Согласно данным ВОЗ, брюшной тиф и паратиф встречаются во всех странах мира, каждый год более 20 млн человек заражаются брюшным тифом, из них для 1% заражение заканчивается летально [2]. Широкое распространение брюшного тифа, сложность современных методов его диагностики и лечения, в большинстве случаев тяжелое течение заболевания определяют данную болезнь как актуальную проблему системы здравоохранения [3].

Пациенты, заболевшие брюшным тифом, и хронические носители возбудителя брюшного тифа являются источниками инфекции, что создает эпидемиологическую опасность распространения этой тяжелой болезни [4,5]. Риск заболеть брюшным тифом

или паратифом среди людей различен, и в эпидемиологическом очаге могут заболеть до 40–50% человек [6,7].

Для совершенствования мер по борьбе с тифом и паратифом необходимо, прежде всего, усовершенствовать диагностику этих инфекций. Для решения указанной проблемы необходимо получить диагностические сыворотки для выявления возбудителей, выделяемых от больных. Для идентификации возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В необходимы диагностические препараты, разрабатываемые на основе гипериммунных сывороток, специфичных для каждого серовара сальмонелл. Это, в свою очередь, создаст основу для быстрого и раннего диагностирования брюшного тифа и паратифов, а также для проведения целенаправленных профилактических мероприятий [8].

Цель исследования – получение гипериммунных агглютинирующих сывороток против сальмонелл с использованием различных схем иммунизации

* For correspondence: Anvarov Jakhongir Abralovich, PhD, Associated professor of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent State Medical University; Junior Researcher at the Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, and Infectious and Parasitic Diseases, 2, Farabi Street, Tashkent, 100109, Republic of Uzbekistan. +998-94-625-90-63, anvarovjakhongir82@gmail.com. ©Tuychiev LN, et al.

и исследование биохимических и иммунологических показателей этих сывороток.

Материалы и методы

В качестве материала для иммунизации (при получении гипериммунной антисыворотки) использовались нижеследующие штаммы сальмонелл: *S. typhi* 002140/4446; *S. typhi* 003788/18, *S. typhi* 003909/135, *S. typhi* 003901/418, *S. typhimurium* 004453/11, *S. enteritidis* 000571/867, *S. paratyphi B* 001150/34, *S. anatum* 001022/885, *S. paratyphi A*, 000652/217, полученные из фондов Национальной коллекции микроорганизмов, включающей патогенные микроорганизмы III–IV групп патогенности, Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний МЗ РУз. Для иммунизации использовались корпускулярные антигены инактивированных штаммов сальмонелл. Проводили исследование гипериммунной сыворотки. Штаммы сальмонеллы и их корпускулярные антигены были приготовлены в различных концентрациях в соответствии со стандартами Мак-Фарланда и введены опытным животным (кролики породы шиншилла). Исследование проводили в 2023–2024 гг.

Серологические методы исследования были проведены для выявления иммуноглобулинов классов А, М и G с использованием метода иммуноферментного анализа и набора реагентов «Вектор БЕСТ, РФ». Результаты оценивались в соответствии с инструкциями производителя.

В биохимических исследованиях проведен анализ содержания общего белка, альбуминов и глобулинов в полученных сыворотках крови на биохимическом анализаторе «Mindray» BA-88A (производство Китай). Результаты оценивались в соответствии с инструкциями производителя.

Для гипериммунизации использовались 12 кроликов породы шиншилла с весом от 2,1 кг до 3,7 кг и возрастом от 4 до 6 месяцев. Экспериментальные животные содержались на карантине в условиях вивария в течение 21 дня.

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

Кролики были разделены на 4 группы. В каждую группу было взято по 3 кролика:

- В 1-й группе каждому кролику на первом этапе иммунизации была введена смесь корпускулярных микробных клеток в количестве 8 млрд из 4 штаммов *S. typhi*. На втором этапе каждому из трех кроликов вводили 12 млрд микробных клеток. На третьем этапе только одному кролику

(с номером 3)* было введено 12 млрд, а на четвертом этапе** всем трем кроликам ввели по 12 млрд корпускулярного антигена.

- Во 2-й группе каждому кролику на первом этапе иммунизации было введено 8 млрд корпускулярных клеток штамма *S. paratyphi A*, на втором этапе – 12 млрд, на третьем этапе только одному кролику (с номером 6)* было введено 12 млрд. На четвертом этапе** каждому кролику было введено 12 млрд;
- В 3-й группе каждому кролику на первом этапе иммунизации было введено 8 млрд корпускулярных микробных клеток штамма *S. paratyphi B*, на втором этапе – 12 млрд. На третьем этапе только одному кролику (с номером 9)* было введено 12 млрд, на четвертом** этапе – каждому кролику по 12 млрд корпускулярного антигена;
- В 4-й группе каждому кролику на первом этапе иммунизации была введена смесь из 8 млрд корпускулярных клеток штаммов *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, 4 штамма *S. typhi*; *S. paratyphi A*, *S. paratyphi B*, *S. anatum*, каждому кролику на втором этапе – по 12 млрд, на третьем этапе только одному кролику (с номером 12)* – 12 млрд. На четвертом этапе** каждому кролику было введено по 12 млрд корпускулярных антигенов.

Примечание: Иммунизацию экспериментальных животных проводили 4 раза, каждые 7 дней. За день до следующей гипериммунизации у экспериментальных животных проводили забор крови для серологических и биохимических исследований. До четвертой иммунизации, в день иммунизации и на следующий день двум кроликам из каждой группы было введено по 0,25 мл (0,75 мг) полиоксидония внутримышечно. Использовался коммерческий препарат Полиоксидоний производства ООО «НПО Петровакс Фарм», РФ. После последней, 4-й гипериммунизации, через 11 дней проводили тотальное взятие крови.

Цифровой материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием программы «Excel-Office» 2016 г. с применением t-критерия Стьюдента. Вычисляли среднюю квадратичную ошибку (m), а также достоверность различий значений в сравниваемых группах. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Был создан банк гипериммунных сывороток против штаммов сальмонелл (72 образца): полученные до иммунизации, после 1–4-й иммунизаций и через 11 дней после последней иммунизации.

* на третьем этапе были иммунизированы только кролики с номерами 3, 6, 9 и 12;

** за день до четвертого этапа иммунизации, в день иммунизации и после иммунизации двум кроликам из каждой группы т.е. кроликам с номерами 1, 2, 4, 5, 7, 8, 10 и 11 было введено 0,25 мл (0,75 мг) полиоксидония внутримышечно.

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

Показатели Indicators	До иммунизации Before immunization		После 1-й иммунизации After the 1st immunization		После 2-й иммунизации After the 2st immunization		После 3-й иммунизации After the 3st immunization		После 4-й иммунизации After the 4st immunization		Через 11 дней после последней иммунизации 11 days after the last immunization	
	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	48,50 ± 2,19	p = 0.01	64,57 ± 1,24	p = 0.01	76,77 ± 3,70	p = 0.01	75,50 ± 3,35	p = 0.003	80,33 ± 7,19	p = 0.02	73,10 ± 3,06	p = 0.003
Альбумин, г/л (А) Albumin, g/l (A)	27,00 ± 1,68	p = 0.8*	27,43 ± 2,23	p = 0.8*	30,10 ± 0,62	p = 0.09*	33,23 ± 3,44	p = 0.2*	26,97 ± 0,95	p = 0.9*	29,40 ± 3,72	p = 0.6*
Глобулин, г/л (Г) Globulin, g/l (G)	21,50 ± 0,51	p = 0.006	37,13 ± 0,98	p = 0.006	46,67 ± 3,33	p = 0.01	42,17 ± 4,96	p = 0.04	53,37 ± 6,95	p = 0.03	43,70 ± 3,95	p = 0.02
А/Г, г/л A/G, g/l	1,27 ± 0,03	p = 0.02	0,73 ± 0,09	p = 0.02	0,67 ± 0,03	p = 0.009	0,81 ± 0,14	p = 0.1*	0,53 ± 0,09	p = 0.007	0,70 ± 0,12	p = 0.02
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,02 ± 0,01	p = 0.1*	0,07 ± 0,05	p = 0.1*	0,03 ± 0,01	p = 0.4*	0,01 ± 0,001	p = 0.2*	0,12 ± 0,001	p = 0.008	0,47 ± 0,02	p = 0.005
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,03 ± 0,001	p = 0.6*	0,03 ± 0,01	p = 0.6*	0,02 ± 0,001	p = 0.1*	0,02 ± 0,001	p = 0.1*	0,02 ± 0,001	p = 0.1*	0,11 ± 0,02	p = 0.08*
IgG, мг/мл IgG, mg/ml	0,53 ± 0,17	p = 0.3*	0,84 ± 0,44	p = 0.3*	1,27 ± 0,42	p = 0.09*	1,00 ± 0,24	p = 0.02	14,34 ± 4,33	p = 0.08*	0,98 ± 0,06	p = 0.1*

Примечание: *p > 0.05, различия показателей до иммунизации статистически не значимы.
Note: *p > 0.05, the differences in indicators before immunization are not statistically significant.

Результаты анализа сывороток, полученных на этапах гипериммунизации, представлены в таблицах 1–4.

В таблице 1 представлены данные о результатах иммунизации экспериментальных животных первой группы. В организме экспериментальных животных на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день после иммунизации наблюдалось повышение уровня глобулинов в качестве иммунного ответа. В сыворотке крови наблюдалась тенденция повышения уровня иммуноглобулина А на 7-й и 14-й день после иммунизации, снижение на 21-й день, а затем повышение на 28-й день и через 11 дней после последней иммунизации. Уровень иммуноглобулина М оставался неизменным на 7-й день, но снизился на 14-й, 21-й и 28-й дни, с последующим увеличением через 11 дней после последней иммунизации. Уровень IgG в сыворотке крови, увеличиваясь на 7-й и 14-й дни после иммунизации, был равен 1,00 ± 0,24 на 21-й день. После четвертой иммунизации, то есть на 28-й день, уровень IgG в сыворотке крови экспериментальных животных вырос с 0,53 ± 0,17 г/л до 14,34 ± 4,33 г/л, по сравнению с показателем до иммунизации.

Анализ сыворотки крови подопытных животных 2-й группы показал, что в дни иммунизации (7-й, 14-й, 21-й, 28-й) общий белок увеличивался с 63,83 ± 0,61 г/л до 76,20 ± 1,59 г/л, что свидетельствует о выраженной защитной реакции организма подопытных животных (табл. 2).

Количество альбуминов также увеличивалось за счет общего белка на 7-й, 14-й и 21-й дни после иммунизации с 27,77 ± 1,04 г/л до 32,43 ± 2,91 г/л, на 28-й день снижалось до 27,17 ± 0,92 г/л, а через 11 дней после последней иммунизации наблюдалось повышение до 28,93 ± 0,87 г/л. На 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни после иммунизации уровень глобулинов увеличивался с 36,07 ± 0,94 до 49,03 ± 2,13 г/л, однако на 39-й день эксперимента (через 11 дней после последней иммунизации) отмечалось снижение данного показателя до 38,10 ± 2,98 г/л.

Количество IgA в сыворотке крови увеличивалось на всех этапах иммунизации (с 0,01 ± 0,001 мг/мл до иммунизации до 0,48 ± 0,02 мг/мл через 11 дней после последней иммунизации). Количество IgM увеличилось

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

Показатели Indicators	До иммуни- зации Before immunization		После 1-й иммунизации After the 1st immunization		После 2-й иммунизации After the 2st immunization		После 3-й иммунизации After the 3st immunization		После 4-й иммунизации After the 4st immunization		Через 11 дней после по- следней иммунизации 11 days after the last immunization	
	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	46,57 ± 1,51	p = 0.01	63,83 ± 0,61	p = 0.01	71,43 ± 1,43	p = 0.01	72,47 ± 3,06	p = 0.01	76,20 ± 1,59	p = 0.007	67,03 ± 2,98	p = 0.01
Альбумин, г/л (А) Albumin, g/l (A)	25,03 ± 1,16	p = 0.2*	27,77 ± 1,04	p = 0.2*	32,10 ± 1,27	p = 0.08*	32,43 ± 2,91	p = 0.2*	27,17 ± 0,92	p = 0.4*	28,93 ± 0,87	p = 0.1*
Глобулин, г/л (Г) Globulin, g/l (G)	21,53 ± 0,68	p = 0.01	36,07 ± 0,94	p = 0.01	39,33 ± 0,67	p = 0.002	40,03 ± 0,81	p = 0.001	49,03 ± 2,13	p = 0.009	38,10 ± 2,98	p = 0.03
А/Г, г/л A/G, g/l	1,17 ± 0,07	p = 0.07*	0,77 ± 0,07	p = 0.07*	0,80 ± 0,06	p = 0.05	0,77 ± 0,07	p = 0.07*	0,57 ± 0,03	p = 0.02	0,77 ± 0,07	p = 0.07*
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,01 ± 0,001	p = 0.4*	0,03 ± 0,02	p = 0.4*	0,05 ± 0,02	p = 0.1*	0,07 ± 0,03	p = 0.2*	0,19 ± 0,04	p = 0.03	0,48 ± 0,02	p = 0.001
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,02 ± 0,001	p = 0.06*	0,03 ± 0,0	p = 0.06*	0,02 ± 0,0	p = 0.4*	0,02 ± 0,001	p = 1.0*	0,04 ± 0,01	p = 0.1*	0,07 ± 0,01	p = 0.08*
IgG, мг/мл Ig G, mg/ml	0,30 ± 0,10	p = 0.3*	0,77 ± 0,26	p = 0.3*	1,35 ± 0,07	p = 0.01	1,23 ± 0,06	p = 0.01	8,84 ± 1,29	p = 0.02	0,64 ± 0,10	p = 0.2*

Примечание: *p > 0.05, различия показателей до иммунизации статистически не значимы.
Note: *p > 0.05, the differences in indicators before immunization are not statistically significant.

до 0,03 ± 0,0 мг/мл на 7-й день после иммунизации, затем на 14-й и 21-й день оставалось на уровне показателей до иммунизации. На 28-й день оно составило 0,04 ± 0,01 мг/мл, а на 39-й день увеличилось до 0,07 ± 0,01 мг/мл, что свидетельствует о повышении уровня IgM в ответ на стимуляцию иммунной системы.

На 7-й, 14-й и 21-й дни после иммунизации у экспериментальных животных 3-й группы уровень общего белка увеличивался с 62,2 ± 0,52 г/л до 72,7 ± 3,46 г/л, что также приводило к значительному повышению уровня альбуминов с 26,27 ± 1,52 г/л до 31,13 ± 3,90 г/л (p < 0,05) (табл. 3).

На 28-й день после иммунизации данные показатели составили 69,5 ± 3,61 г/л для общего белка и 26,27 ± 2,01 г/л для альбуминов. Уровень глобулинов также увеличивался на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни после иммунизации, а на 39-й день (через 11 дней после последней иммунизации) наблюдалась тенденция к снижению.

Количество IgA в сыворотке крови экспериментальных животных по сравнению с показателями до иммунизации (0,01 ± 0,0 мг/мл) увеличилось на этапах иммунизации (0,47 ± 0,02 мг/мл). Количество IgM после 1-го и 2-го этапов иммунизации осталось стабильным, как и показатели до иммунизации (0,02 ± 0,001 мг/мл). После третьей иммунизации было зарегистрировано незначительное снижение до 0,01 ± 0,001 мг/мл, а после 4-й иммунизации и через 11 дней после последней иммунизации (39-й день эксперимента) составило соответственно 0,04 ± 0,01 и 0,10 ± 0,02 мг/мл. Показатели IgG в сыворотке крови кроликов после иммунизации на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й день увеличились с 0,48 ± 0,10 мг/мл до 11,45 ± 1,69 мг/мл, что свидетельствует о нормальном иммунном ответе у экспериментальных животных.

В сыворотке крови у экспериментальных животных 4-й группы количество общего белка на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день после иммунизации увеличилось с 46,93 ± 3,03 г/л до 72,07 ± 4,65 и 81,1 ± 2,60 г/л по сравнению с показателями до иммунизации (p < 0,05) (табл. 4).

Количество альбуминов после 1-й, 2-й и 3-й иммунизации увеличилось с 25,87 ± 1,64 г/л до 31,2 ±

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

Показатели Indicators	До иммунизации Before immunization		После 1-й иммунизации After the 1st immunization		После 2-й иммунизации After the 2st immunization		После 3-й иммунизации After the 3st immunization		После 4-й иммунизации After the 4st immunization		Через 11 дней после последней иммунизации 11 days after the last immunization	
	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	45,47 ± 1,94	p = 0,07*	62,2 ± 0,52	p = 0,01	71,33 ± 2,25	p = 0,006	72,7 ± 3,46	p = 0,01	69,5 ± 3,61	p = 0,02	64,47 ± 2,52	p = 0,01
Альбумин, г/л (А) Albumin, g/l (A)	25,0 ± 1,33	p = 0,6*	26,27 ± 1,52	p = 0,007	32,60 ± 0,83	p = 0,04	31,13 ± 3,90	p = 0,8*	26,27 ± 2,01	p = 0,3*	28,9 ± 1,40	p = 0,1*
Глобулин, г/л (Г) Globulin, g/l (G)	20,47 ± 0,64	p = 0,007	35,93 ± 1,99	p = 0,04	38,73 ± 2,11	p = 0,3*	41,57 ± 1,03	p = 0,1*	43,23 ± 3,57	p = 0,01	35,63 ± 1,11	p = 0,003
А/Г, г/л A/G, g/l	1,23 ± 0,03	p = 0,04	0,73 ± 0,09	p = 0,04	0,83 ± 0,03	p = 0,1*	0,10 ± 0,04	p = 0,4*	0,07 ± 0,03	p = 0,2*	0,80 ± 0,0	p = 0,01
IgA, мг/мл mg/ml	0,01 ± 0,0	p = 0,3*	0,02 ± 0,001	p = 0,04	0,10 ± 0,04	p = 0,1*	0,02 ± 0,0	p = 0,4*	0,10 ± 0,05	p = 0,2*	0,47 ± 0,02	p = 0,001
IgM, мг/мл mg/ml	0,02 ± 0,001	p = 0,1*	0,02 ± 0,001	p = 0,04	0,02 ± 0,0	p = 0,1*	0,01 ± 0,001	p = 0,4*	0,04 ± 0,01	p = 0,1*	0,10 ± 0,02	p = 0,04
IgG, мг/мл mg/ml	0,29 ± 0,09	p = 0,04	0,48 ± 0,10	p = 0,04	0,80 ± 0,07	p = 0,04	0,90 ± 0,17	p = 0,01	11,45 ± 1,69	p = 0,02	0,89 ± 0,11	p = 0,08*

Примечание: * - p > 0,05, различия показателей до иммунизации статистически не значимы.
Note: * p > 0,05, the differences in indicators before immunization are not statistically significant.

1,13 г/л, а после 4-й иммунизации и через 11 дней после последней иммунизации наблюдается тенденция к снижению с 27,5 ± 0,32 г/л до 26,67 ± 2,24 г/л (p > 0,05). Количество глобулинов в плазме крови экспериментальных животных на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день после иммунизации увеличилось с 46,13 ± 3,01 г/л до 53,6 ± 2,81 г/л, а через 11 дней после последней иммунизации наблюдается тенденция к снижению до 44,73 ± 2,37 г/л (p < 0,05), что подтверждает адаптационные процессы в организме экспериментальных животных.

Количество IgA в плазме крови кроликов на всех этапах иммунизации составило 0,13 ± 0,01 мг/мл, по сравнению с показателями до иммунизации (0,01 ± 0,0 мг/мл) (p < 0,05). Уровень IgM увеличился до 0,04 ± 0,001 мг/мл на 7-й день после иммунизации, а затем на 14-й и 21-й день снизился до 0,02 ± 0,01 и 0,01 ± 0,001 мг/мл соответственно. Показатели IgG в плазме крови животных 4-й группы после иммунизации на 7-й и 14-й день увеличились с 0,56 ± 0,06 мг/мл до 1,02 ± 0,14 мг/мл, а на 21-й день снизились до 0,84 ± 0,26 мг/мл (p < 0,05).

До четвертой иммунизации, в день иммунизации и на следующий день двум кроликам в каждой группе было введено по 0,25 мл (0,75 мг) полиоксидония внутримышечно. После этого показатели IgG в плазме крови экспериментальных животных увеличились до 12,73 ± 5,25 мг/мл.

Показатели общего белка и глобулинов на 28-й день эксперимента в плазме крови животных 4-й группы, которым были одновременно введены смеси 4 штаммов *S. typhi* и нескольких сероваров *Salmonella* (*S. paratyphi* A; *S. paratyphi* B; *S. typhimurium*; *S. enteritidis*; *S. anatum*), были высокими.

Обсуждение

С использованием различных схем иммунизации были получены иммунные сыворотки от экспериментальных животных в количестве 72 образцов и создан банк диагностических агглютинирующих сывороток против микробов *Salmonella*. С помощью биохимических и серологических методов в полученных гипериммунных агглютинирующих противосальмонеллезных сыворотках были определены уровни общего белка, альбуминов, глобулинов,

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

Показатели Indicators	До иммунизации Before immunization		После 1-й иммунизации After the 1st immunization		После 2-й иммунизации After the 2st immunization		После 3-й иммунизации After the 3st immunization		После 4-й иммунизации After the 4st immunization		Через 11 дней после последней иммунизации 11 days after the last immunization	
	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p	M ± m	p
Общий белок, г/л Total protein, g/l	46,93 ± 3,03	p = 0.006	72,07 ± 4,65	p = 0.001	75,9 ± 3,17	p = 0.001	78,63 ± 3,47	p = 0.01	81,1 ± 2,60	p = 0.02	71,4 ± 4,14	p = 0.06*
Альбумин, г/л (А) Albumin, g/l (A)	25,17 ± 2,34	p = 0.42*	25,87 ± 1,64	p = 0.14*	28,47 ± 3,42	p = 0.001	31,2 ± 1,13	p = 0.08*	27,5 ± 0,32	p = 0.32*	26,67 ± 2,24	p = 0.67*
Глобулин, г/л (Г) Globulin, g/l (G)	21,77 ± 0,90	p = 0.01	46,13 ± 3,01	p = 0.001	47,43 ± 0,73	p = 0.004	47,43 ± 3,93	p = 0.02	53,6 ± 2,81	p = 0.01	44,73 ± 2,37	p = 0.01
А/Г, г/л A/G, g/l	1,13 ± 0,09	p = 0.02	0,60 ± 0,0	p = 0.02	0,60 ± 0,06	p = 0.03	0,67 ± 0,07	p = 0.18*	0,53 ± 0,03	p = 0.02	0,60 ± 0,06	p = 0.06*
IgA, мг/мл IgA, mg/ml	0,01 ± 0,0	p = 0.42*	0,01 ± 0,001	p = 0.18*	0,05 ± 0,01	p = 0.03	0,06 ± 0,02	p = 0.01	0,13 ± 0,01	p = 0.003	0,49 ± 0,01	p = 0.0001
IgM, мг/мл IgM, mg/ml	0,03 ± 0,001	p = 0.2*	0,04 ± 0,001	p = 0.04	0,02 ± 0,01	p = 0.04	0,01 ± 0,001	p = 0.1	0,03 ± 0,0	p = 0.4*	0,10 ± 0,02	p = 0.07*
IgG, мг/мл Ig G, mg/ml	0,17 ± 0,04	p = 0.05	0,56 ± 0,06	p = 0.04	1,02 ± 0,14	p = 0.04	0,84 ± 0,26	p = 0.1	12,73 ± 5,25	p = 0.1*	0,83 ± 0,24	p = 0.1*

Примечание: *p > 0,05, различия показателей до иммунизации статистически не значимы.
Note: *p > 0.05, the differences in indicators before immunization are not statistically significant.

их соотношение, а также количество IgA, IgM и IgG.

Тенденция повышения общего белка на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й дни после иммунизации свидетельствует о включении защитных механизмов организма в связи с увеличением общего белка, уровень альбуминов, в свою очередь, увеличился с $27,00 \pm 1,68$ г/л до $33,23 \pm 3,44$ г/л, по сравнению с показателями до иммунизации.

Анализ сыворотки крови подопытных животных 2-й группы показал, что в дни иммунизации (7-й, 14-й, 21-й, 28-й) общий белок увеличивался с $63,83 \pm 0,61$ г/л до $76,20 \pm 1,59$ г/л, что свидетельствует о выраженной защитной реакции организма подопытных животных. На 39-й день эксперимента (через 11 дней после последней иммунизации) снижение уровня общего белка до $67,03 \pm 2,98$ г/л указывает на процесс адаптации.

Снижение уровня IgG после третьей иммунизации может быть связано с тем, что в третьей иммунизации из каждой группы использовалось только одно экспериментальное животное. Повышение уровня IgG после четвертой иммунизации, вероятно, связано с тем, что за день до четвертой иммунизации, в день иммунизации и на следующий день после иммунизации, каждому животному из каждой группы (1, 2, 4, 5, 7, 8, 10 и 11 номера) вводили 0,25 мл (0,75 мг) полиоксидония внутримышечно.

После гипериммунизации увеличение уровня общего белка, альбуминов, глобулинов, IgM и IgG свидетельствует о традиционном иммунном ответе на антигены (повышение уровня IgM на первой неделе – первичный иммунный ответ, повышение уровня IgG начиная со второй недели – вторичный иммунный ответ).

IgA в организме вырабатывается В-лимфоцитами в слизистых оболочках дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы, выполняя функцию местной защиты. Изменения уровня данного иммуноглобулина в крови экспериментальных животных, как указано выше, находились в пределах нормы.

После последней иммунизации, на 11-й день уровень IgM снова возрос до $0,10 \pm 0,02$ мг/мл ($p > 0,05$). Это указывает на формирование стабильного вторичного иммунного ответа

Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

в организме экспериментальных животных. Учитывая, что продукция IgM постепенно заменяется на продукцию IgG, наблюдаемое увеличение уровня IgG с $0,77 \pm 0,26$ мг/мл до $8,84 \pm 1,29$ мг/мл на 7–14–21–28-й дни и последующее снижение до $0,64 \pm 0,10$ мг/мл на 39-й день после последней иммунизации указывают на нормальный процесс развития иммунного ответа. Это снижение на 39-й день является нормальной реакцией, показывающей адекватность иммунного ответа у экспериментальных животных.

Заключение

С использованием различных схем иммунизации были получены иммунные сыворотки от экспериментальных животных в количестве 72 образцов и создан банк диагностических агглютинирующих сывороток против микробов *Salmonella*. В организме экспериментальных животных на 7-й, 14-й, 21-й

и 28-й дни иммунизации наблюдалось увеличение уровня глобулинов, что свидетельствует о развитии иммунного ответа.

В сыворотке крови также наблюдалась тенденция к увеличению уровней иммуноглобулинов А и М на 28-й день иммунизации.

В сыворотках крови, полученных от животных 1-й группы, иммунизированных четырьмя штаммами *Salmonella typhi*, и 4-й группы, получивших антигены нескольких сероваров *Salmonella*, показатели общего белка, альбуминов, глобулинов и IgG были значительно повышены на 28-й день эксперимента.

Учитывая, что показатели общего белка, альбумина, глобулина и IgG у подопытных кроликов были наивысшими на 28-й день иммунизации, от экспериментальных животных можно получить высокоактивные сыворотки, специфичные для группы против *Salmonella*, после 4-й недели после иммунизации.

Литература/References

1. Fonteneau L, Jourdan Da Silva N, Fabre L, et al. Multinational outbreak of travel-related *Salmonella* Chester infections in Europe, summers 2014 and 2015. *Euro Surveill*. 2017. Vol. 22, N7. P. 30463.
2. Als D, Radhakrishnan A, Arora P, et al. Global Trends in Typhoidal Salmonellosis: A Systematic Review. *Am J Trop Med Hyg*. 2018. Vol. 99, N3. P. 10–19.
3. Crump J.A., Sjölund-Karlsson M., Gordon M.A., et al. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2015. Vol. 28, N4. P. 901–937.
4. Kabwama S.N., Bulage L., Nsubuga F., et al. Correction to: A large and persistent outbreak of typhoid fever caused by consuming contaminated water and street-vended beverages: Kampala, Uganda, January - June 2015. *BMC Public Health*. 2017. Vol. 17, N1. P. 823.
5. Dyson Z.A., Klemm E.J., Palmer S., et al. Antibiotic Resistance and Typhoid. *Clin Infect Dis*. 2019. Vol. 68, N2. P. S165–S170.
6. Holt K.E., Phan M.D., Baker S., et al. Emergence of a globally dominant *IncHI1* plasmid type associated with multiple drug resistant typhoid // *PLoS Negl Trop Dis*. 2011. Vol. 5, N7. P. e1245.
7. Mogasale V., Maskery B., Ochiai R.L., et al. Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk-factor adjustment. *Lancet Glob Health*. 2014. Vol. 2, N10. P. e570–e580.
8. Kinikar Anagha, Bhalerao Deepika, Roushani Shahriar, et al. The Easy and Early Diagnosis of Typhoid Fever. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2012. Vol. 6, N2. P. 198–199.

Об авторах

- **Лазиз Надирович Туйчиев** – д. м. н., профессор, заведующий кафедрой инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентского государственного медицинского университета; Ведущий научный сотрудник Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний. +998-71-214-83-11, l_tuychiev@mail.ru. ORCID: 0000-0003-2312-8640.
- **Ботир Мирхамитович Таджиев** – д. м. н., профессор, директор Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний; Заведующий кафедрой инфекционных болезней, детских инфекционных болезней, фтизиатрии и пульмонологии Ташкентского государственного медицинского университета. +998-90-036-14-56, Dr.botir71@mail.ru.
- **Нигора Убайдуллаевна Таджиева** – д. м. н., профессор, заместитель директора по научной работе Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний; Профессор кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентского государственного медицинского университета. +998-71-243-3605, +998-90-355-5171, n.tadjieva17091973@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8739-6252.
- **Амир Мангу-Темирович Бектемиров** – к. м. н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных болезней. +998-90-933-34-59, bektemirovampir83@gmail.com. ORCID: 0009-0003-0044-1842.
- **Одилжон Шодиевич Касимов** – д. м. н., ведущий научный сотрудник бактериологической лаборатории Ташкентского научно-исследовательского института вакцин и сывороток. +998-90-067-75-10, info.niiemiz@ssv.uz. ORCID: 0009-0000-2103-3985.
- **Нигора Набиевна Каримова** – врач-лаборант клинико-диагностической лаборатории Республиканского специализированного научно-

About the Authors

- **Laziz N. Tuychiev** – Dr. Sci. (Med.), professor, Head of Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent State Medical University; Leading Researcher at the Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, and Infectious and Parasitic Diseases. +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; Head of the Department of Infectious Diseases, Pediatric Infectious Diseases, Phthiology, and Pulmonology at the Tashkent State Medical University. +998-90-036-14-56, Dr.botir71@mail.ru.
- **Nigora U. Tadjieva** – Dr. Sci. (Med.), Professor, Deputy Director for Science of the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases; Professor of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent State Medical University. +998-71-243-3605, +998-90-355-5171, n.tadjieva17091973@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8739-6252.
- **Amir A-T. Bektemirov** – Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, The Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology, Microbiology, Infectious Diseases and Parasitic Diseases. +9-9890-933-34-59, bektemirovampir83@gmail.com. ORCID: 0009-0003-0044-1842.
- **Odiljon Sh. Kasimov** – Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher of the Bacteriological Laboratory at the Tashkent Research Institute of Vaccines and Sera. +998-90-067-75-10, info.niiemiz@ssv.uz. ORCID: 0009-0000-2103-3985.
- **Nigora N. Karimova** – Laboratory Physician of the Clinical Diagnostic Laboratory at the Republican Specialized Scientific-Practical Medical Center of Epidemiology, Microbiology, and Infectious and Parasitic Diseases. knigora278@gmail.com. ORCID: 0009-0006-6400-5750.
- **Jakhongir A. Anvarov** – PhD, Associated professor of the Infectious and Children's Infectious Diseases Department of the Tashkent State Medical University; Junior Researcher at the Republican Specialized Scientific-Practical

практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний. knigora278@gmail.com. ORCID: 0009-0006-6400-5750.

- **Жахонгир Абралович Анваров** – PhD, доцент кафедры инфекционных и детских инфекционных болезней Ташкентского государственного медицинского университета; Младший научный сотрудник Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра эпидемиологии, микробиологии и инфекционных, паразитарных заболеваний. +998-94-626-90-63, anvarovjahongir82@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1080-3651.

- **Акмал Пулатович Юсупов** – PhD, старший преподаватель кафедры медицины Университета Альфраганус. +998-97-776-7168, akmal.yusupov.1989@mail.ru. ORCID: 0009-0007-4167-5433.

Поступила: 01.03.2025. Принята к печати: 06.04.2025.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

Medical Center of Epidemiology, Microbiology, and Infectious and Parasitic Diseases. +998-94-626-90-63, anvarovjahongir82@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1080-3651.

- **Yusupov Akmal Pulatovich** – PhD, Senior Lecturer at the Department of Medicine, Alfraganus University. +998-97-776-7168, akmal.yusupov.1989@mail.ru. ORCID: 0009-0007-4167-5433.

Received: 01.03.2025. Accepted: 06.04.2025.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.