

МРНТИ 68.41.63
УДК 576.809.7.616.981.452:636.294
https://doi.org/10.52269/22266070_2024_4_9

ИЗУЧЕНИЕ ПОСТВАКЦИНАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНОЙ ИЗ ШТАММА EV

Бижанов А.Б. – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Алматы, Республика Казахстан.*

Тугамбаев Т.И. – доктор биологических наук, профессор, Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций, г. Алматы, Республика Казахстан.

Кайыпбай Б.Б. – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Алматы, Республика Казахстан.

Сембина Ф.Е. – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», г. Алматы, Республика Казахстан.

В статье приведены результаты экспериментов, проведенных с целью изучения гуморального иммунитета методом реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) и клеточного иммунитета с помощью метода локального гемолиза по выявлению антителообразующих клеток (АОК) по Йерне и Нордину и методом розеткообразования Т-лимфоцитов у лабораторных животных, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV.

В результате проведенных в РНГА исследовании установлено, что на 90 сутки после вакцинации титры антител у животных 2 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 20 чел/дозам и животных 3 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 25 чел/дозам, одинаковы.

В результате проведенных, с помощью метода локального гемолиза по выявлению антителообразующих клеток, исследований выявлено, что парентеральное введение белым мышам вакцины против чумы верблюдов в дозе для белых мышей, тождественной 18 чел/дозам вызывает выработку АОК в 4 раза больше, а 20 чел/доз в 5 раз больше, чем при введении 15 чел/доз. Увеличение вводимой дозы вакцины до 25 чел/доз не приводило к существенному статистически значимому увеличению количества вырабатываемых АОК.

При исследовании антигенспецифического розеткообразования в динамике выявлено раннее нарастание этого показателя, причем наиболее высокий уровень (12,2) установлен на 21 сутки исследования у животных, вакцинированных дозой, тождественной 20 чел/дозам.

Ключевые слова: белые мыши, вакцина, иммунитет, чума, штамм EV.

EV ШТАММЫНАН ДАЙЫНДАЛҒАН ТІРІ ОБА ВАКЦИНАСЫМЕН ЕГІЛГЕН ЛАБОРАТОРИЯЛЫҚ ЖАНУАРЛАРДАҒЫ ПОСТВАКЦИНАЛДЫҚ ИММУНИТЕТТІ ЗЕРТТЕУ

Бижанов А.Б. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бактериология бөлімінің бас ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.*

Тугамбаев Т.И. – биология ғылымдарының докторы, профессор, Қазақ карантиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Кайыпбай Б.Б. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бактериология бөлімінің бас ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Сембина Ф.Е. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, бактериология бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Мақалада EV штаммынан дайындалған құрғақ оба вакцинасымен иммунизацияланған зертханалық жануарларда, гуморальдық иммунитетті – жанама гемагглютинация реакциясы (ЖГАР) әдісін қолдану арқылы және жасушалық иммунитетті – Джерне мен Нордин бойынша жергілікті гемолиз әдісімен антидене түзетін жасушаларды анықтау (АТЖ) және Т-лимфоциттердің розетка түзілу әдісін қолдану арқылы зерттеу бойынша жүргізілген тәжірибелердің нәтижелері берілген.

ЖГАР-да зерттеу нәтижесінде, вакцинациядан кейін 90 күн өткен соң, 2-ші топтағы жануарларда, тышқандар үшін 20 адам/доза мөлшерінде егілген, және 3-ші топтағы жануарларда, тышқандар үшін 25 адам/доза мөлшерінде егілген жануарлардың антидене титрлері бірдей екені анықталды.

Антидене түзуші жасушаларды анықтау үшін жергілікті гемолиз әдісімен жүргізілген зерттеулер нәтижесінде, ақ тышқандарға түіе обасына қарсы вакцинаны 18 адам/доза мөлшерінде парентеральді енгізу АҚК-ны 4 есе көп, ал 15 адам/доза мөлшеріне қарағанда 20 адам/доза мөлшерінде 5 есе көп тудыратыны анықталды. Вакцинаның енгізілген дозасын 25 адамға/ дозаға дейін ұлғайту пайда болатын АҚК көлемінің статистикалық жағынан айтарлықтай өсуіне әкеп соқпады.

Антигенге тән розетка түзілуін динамикада зерттегенде, бұл көрсеткіштің ерте артуы анықталды, ал зерттеудің 21-ші күні 20 адамға/дозаға сәйкес дозамен егілген жануарларда ең жоғары деңгейі (12,2) анықталды.

Түйінді сөздер: ақ тышқандар, вакцина, EV штаммы, иммунитет, оба.

STUDY OF POST-VACCINAL IMMUNITY IN LABORATORY ANIMALS IMMUNIZED WITH LIVE PLAGUE VACCINE STRAIN EV

Bizhanov A.B. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.*

Tugambayev T.I. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Kaiypbay B.B. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Sembina F.Y. – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Almaty, Republic of Kazakhstan.

The article presents the results of experiments conducted to study humoral immunity by indirect hemagglutination reaction (IHR) and cellular immunity using the method of local hemolysis to detect antibody-forming cells (ABC) according to Yerne and Nordin and the method of rosette formation of T-lymphocytes in laboratory animals immunized with dry live plague vaccine EV. The IHR test results revealed that by the 90th day post-vaccination, antibody titers in animals from Group 2, vaccinated with a dose equivalent to 20 man/doses for mice, and in animals from Group 3, vaccinated with a dose equivalent to 25 man/doses for mice, were identical.

The studies conducted using the local hemolysis method to detect ABCs showed that the parenteral administration of a camel pox vaccine to white mice, at a dose equivalent to 18 man/doses, induced the production of ABCs at a level four times higher, and at 20 man/doses, five times higher than with a dose of 15 man/doses. Increasing the vaccine dose to 25 man/doses did not result in a statistically significant increase in the number of ABCs produced.

The study of antigen-specific rosette formation in dynamics revealed an early increase in this index, with the highest level (12.2) recorded on the 21st day of the study in animals vaccinated with a dose equivalent to 20 man/doses.

Key words: white mice, vaccine, immunity, plague, EV strain.

Введение. В настоящее время насчитывается около 50 государств в Азии, Европе, Африке, Америке, на территории которых обнаружены природные очаги чумы [1, с. 8, 2, с. 2]. В некоторых из них почти ежегодно возникают заболевания людей [3, с. 3]. Одной из таких стран является Казахстан, где 40 % территории относятся к природным очагам чумы [4, с. 2]. Этот регион носит название Среднеазиатского равнинного очага чумы, занимающего территории 6 областей республики: Мангыстауской, Кызылординской, Актюбинской, Алматинской, Южно-Казахстанской, Жамбылской и Волго-Уральского песчаного очага, куда относятся Атырауская и Западно-Казахстанская области [5, с. 5].

Носителями чумы являются грызуны, обитающие в пустынных зонах: зайцы, хомяки, суслики, песчанки, полевки. Они обеспечивают сохранение чумного микроба в эпизоотическом процессе, организм этих животных не способен препятствовать размножению чумного микроба при его проникновении парентеральным путем даже в небольших дозах. Блохи и клещи, являющиеся переносчиками заболевания, предварительно кормятся на грызунах в период массовой бактериемии и посредством укуса инфицируют и людей, и верблюдов, так как возбудитель чумы верблюдов и чумы человека идентичен [6, с. 9]. Ежегодно в Казахстане регистрируется чума среди грызунов в различных энзоотических по чуме территориях – природных автономных очагах чумы [7, с. 12].

Заражение верблюдов происходит при интенсивной эпизоотии среди грызунов и инкубационный период может продолжаться от 2 до 8 дней. Клиническое проявление болезни характеризуется повышением температуры, аритмией пульса, заторможенностью жвачки, истощением, отсутствием аппетита, у беременных маток могут быть аборт. В основном регистрируют острую форму болезни, когда смерть наступает на 5-12 дни после заражения. Острое течение может перейти в хроническое с последующим выздоровлением. Бактерионосительство у хронически больных животных продолжается до 30 дней и более.

Заболевание может протекать в бубонной, септической и легочной формах. Различие клинических форм характеризуется местом проникновения возбудителя в организм – через кожу или слизистые оболочки. Наблюдениями установлена возможность кроме посмертной и прижизненной диагностики, когда выделяли возбудитель из крови температурающих животных. По инструкции больных чумой верблюдов не лечат, их забивают, а трупы сжигают.

Больные верблюды могут служить источником инфекции для человека. Они выделяют возбудителя с абортированными плодами, с кровью из ран, слизью из носа, что может вызвать заражение людей при уходе за ними, а также с мочой и молоком. В случаях вынужденного забоя заболевших верблюдов характерными являются групповое заболевание с одновременным возникновением множественных очагов, что связано с количеством участников в прирезке, разделке туши и обработке внутренностей животного. Реализация инфицированного верблюжьего мяса создает угрозу распространения инфекции в регионе.

Первые упоминания о чуме на территории Казахстана относятся к началу 16 века, когда эпидемии чумы была на Мангышлаке. В настоящее время во всех энзоотических по чуме территориях во время интенсивной эпизоотии среди грызунов проводятся профилактические мероприятия ветеринарных специалистов совместно с противочумной службой. Всех верблюдов не реже одного раза в неделю подвергают обработке инсектицидными и акарицидными препаратами и проводят поголовную иммунизацию верблюдов чумной живой вакциной из штамма EV. Карантин снимают после прекращения острой эпизоотии чумы среди грызунов, по заключению противочумной службы.

К чуме нельзя применить такой термин как «ликвидация», ее можно только ограничивать, пока существуют природные очаги будет существовать и чума.

Использование существующей сухой живой противочумной вакцины из штамма EV, детальное изучение иммунитета на выявление оптимальных прививочных доз для верблюдов является необходимостью, так как дозы были разработаны более 50 лет назад, для производимых в то время серий вакцины, а вакцинные штаммы различаются по своим иммуногенным свойствам.

Целью работы явилось изучение гуморального и клеточного иммунитета у лабораторных животных, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV.

Задачи:

1. Изучить гуморальный иммунитет в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV.

2. Изучить клеточный иммунитет с помощью метода локального гемолиза по выявлению антителообразующих клеток (АОК) по Йерне и Нордину [8, с. 3] и метода розеткообразования Т-лимфоцитов у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV.

Материалы и методы исследований. Научные исследования по изучению гуморального и клеточного иммунитета проводились в лаборатории по изучению инфекционных болезней лошадей и верблюдов Казахского научно-исследовательского ветеринарного института (КазНИВИ) совместно с сотрудниками Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева (КНЦКЗИ), в период 2005-2010 годы, по ПЦП «Разработка на биотехнологической основе средств и методов диагностики, терапии и специфической профилактики мыта, пастереллеза, эпизоотического лимфангоита лошадей и чумы, трихофитии верблюдов», инвентарный номер: 0202PK00557, регистрационный номер: 0101PK00275.

В качестве исходного материала использовалась сухая живая вакцина против чумы из штамма *Yersinia pestis* EV, депонированная в музее живых культур микроорганизмов при КНЦКЗИ им. М. Айкимбаева.

Исследования с участием животных были одобрены Этической комиссией КазНИВИ.

Всего в экспериментах было использовано (n = 270) белых лабораторных мышей, массой 18-20 г.

При проведении опытов на белых мышах в КНЦКЗИ им. М. Айкимбаева первоначально определяли иммунизирующую человеко-дозу с использованием различных доз вакцины из штамма EV. Белые мыши в количестве 110 голов и весом 18-20 г были разделены на 11 групп – 10 опытных и 1 контрольную, по 10 голов в каждой. Они были иммунизированы однократно, подкожно в объеме 0,2 см³ в дозах для мышей, тождественных 0,1; 0,3; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0 человеко-дозам.

Через 21 сутки после иммунизации все животные были заражены вирулентной культурой чумного микроба в дозе 20 DCL контролем служили 10 не вакцинированных мышей. Затем в течение 10 дней после заражения наблюдали за количеством выживших животных и для дальнейших исследований использовали ту дозу, где регистрировали 100% выживших и пограничные с ней дозы использованной вакцины.

Антитела к отобраным человеко-дозам, сухой живой вакцины против чумы из штамма *Yersinia pestis* EV, определяли в (n = 180) пробах крови лабораторных белых мышей, путем постановки РНГА, согласно общепринятой методики [9, с. 2]. С этой целью 60 белых мышей были разделены на 4 группы по 15 голов в каждой, на 3 опытные и 1 контрольную. Животные опытных групп были вакцинированы соответствующими дозами, для мышей тождественными 15, 20, 25 чел/дозам, животным контрольной группы был введен физиологический раствор в объеме 0,2 см³ внутривенно. Для определения уровня противочумных антител от подопытных животных отбирали пробы крови на 21, 60, 90 сутки после вакцинации. Титры антител определяли в РНГА с 2,5% эритроцитарным чумным антигенным диагностикумом по общепринятой методике.

Результат учитывали на микро планшетном фотометре для иммуноферментного анализа Stat Fax 2100 Awareness Technology, ОП проб > 0,4, ОП контролей < 0,2.

Определение антителообразующих клеток (АОК), индуцированных на введение различных доз чумной вакцины из штамма EV, проводили согласно общепринятой методики [10, с. 2].

В опытах использовали (n = 25) беспородных белых мышей, 18-20 г весом, которых разделили на 5 групп: 4 опытные и 1 контрольную, по 5 животных в каждой. Мыши опытных групп были иммунизированы подкожно соответственно 15, 18, 20, 25 чел/доз вакцины из штамма EV, что в пересчете на белых мышах примерно соответствовало чел/дозам 15-150 тыс.м.к., 18-180 тыс.м.к., 20-200 тыс.м.к., 25-250 тыс.м.к., животным контрольной группы был введен внутривенно физиологический раствор в объеме 0,2 см³.

Селезенку извлекали на 5 сутки после иммунизации. Мышей убивали эфирным наркозом. Реакцию учитывали по числу зон лизиса эритроцитов на 1 млн спленоцитов. Для определения числа АОК использовали нитроцеллюлозные плашки MAHAN4510, Millipore, USA.

Опыты по определению числа розеткообразующих Т-лимфоцитов у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV, проводили согласно общепринятой методики [11, с. 2].

Для определения количества антигенсвязывающих лимфоцитов (n = 75) беспородные белые мыши, весом 18-20 г, были разделены на 5 групп: 4 опытные и 1 контрольную, по 15 голов в каждой. Мыши опытных групп были иммунизированы подкожно соответственно 15, 18, 20, 25 чел/доз вакциной из штамма EV. Животным контрольной группы введен внутривенно физиологический раствор в объеме 0,2 см³.

Реакцию учитывали по количеству розеткообразующих лимфоцитов на 200 антигенсвязывающих лимфоцитов (т.е. лимфоцитов, связавших более 3 эритроцитов, в дальнейшем именуем просто «розетки»). Животных усыпляли эфирным наркозом.

Подсчитывали иммунные розетки в световом микроскопе под иммерсией (90x10). Абсолютное содержание розеток в 1 мкл крови определяли по формуле:

$$x = (Ax \cdot B \cdot C) / 10000;$$

где: x – содержание иммунных розеток в 1 мкл крови;
 A – общее количество лейкоцитов в 1 мкл крови;
 B – процентное содержание лимфоцитов;
 C – процентное содержание иммунных розеток.

Результаты экспериментов. Результаты опытов по определению иммунизирующей человеко-дозы на белых мышах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты опыта по определению иммунизирующей человеко-дозы на белых мышах

Группы животных	Опытные										Контрольная
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Вакцинация подкожно (в чел. дозах)	0,1	0,3	0,5	1	2	3	5	10	20	30	Не вакцинированы

Продолжение таблицы 1

Количество животных в группе (голов)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Результаты заражения белых мышей на 21 сутки после иммунизации (пало/выжило)	10/0	10/0	10/0	10/0	10/0	9/1	6/4	3/7	0/10	0/10	10/0

Как показали результаты экспериментов, в течение 10 дней (срок наблюдения) после заражения в группах, вакцинированных в дозах для мышей, тождественных 20 и 30 человеко-дозам выжили все животные, т.е. результаты оказались идентичными.

Поскольку применение вакцины в дозе, тождественной для мышей в 20 чел/доз предохраняет от заражения 100 % иммунизированных животных, также как и тождественная для мышей доза в 30 чел/доз, мы сочли целесообразным при постановке РНГА использовать вышеуказанную и пограничные с ней дозы в 15 и 25 тождественных для мышей доз.

Антитела к отобраным человеко-дозам, сухой живой вакцины против чумы из штамма *Yersinia pestis* EV, определяли путем постановки РНГА. Результаты опытов отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты РНГА

Группы животных	Опытные группы			Контрольная группа	
	1	2	3		
Вакцинация, подкожно, чел/доз	15	20	25	0,2 ФР внутрибрюшинно	
Количество мышей в группе	15	15	15	15	
Титр антител в РНГА	21 сут	1792±212	3072±627	3584±572	-
	60 сут	1536±316	2304±325	2560±424	-
	90 сут	1280±256	1792±415	1792±426	-

В результате проведенных исследований установлено, что на 90 сутки после вакцинации титр антител у животных 2 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 20 чел/дозам и животных 3 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 25 чел/дозам, одинаков. По итогам экспериментов, проведенных на мышах установлено, что из тождественных для белых мышей человеко-доз, взятых в диапазоне 0,1-30, оптимальной прививочной дозой является 20 чел/доз.

Результаты исследований по определению антителообразующих клеток (АОК), индуцированных на введение различных доз чумной вакцины из штамма EV, отражены в таблице 3.

Таблица 3 – Определение антителообразующих клеток (АОК)

Группы животных	Опытные группы				Контрольная группа
	1	2	3	4	
Вакцинация, подкожно, чел/доз	15	18	20	25	0,2 ФР внутрибрюшинно
Количество мышей в группе	5	5	5	5	5
Выработка АОК на 5 сут	33±1	132±2	165±3	167±3	-
Коэффициент иммуностимуляции	-	4	5	5,06	-

На основании проведенных исследований установлено, что на 5 сутки у животных 1 группы в среднем образовалась 33±1 АОК; у животных 2 группы – 132±2 АОК (КИ=4); у животных 3 группы – 165±3 АОК (КИ=5); у животных 4 группы – 167±3 АОК (КИ=5,06). Коэффициент иммуностимуляции рассчитывали, как отношение числа АОК, образовавшихся при вакцинации наименьшей дозой к числу АОК, образовавшихся при введении последующих доз. Выявлено, что парентеральное введение белым мышам вакцины против чумы верблюдов в дозе для белых мышей, тождественной 18 чел/дозам вызывает выработку АОК в 4 раза больше, а 20 чел/доз в 5 раз больше, чем при введении 15 чел/доз. Увеличение вводимой дозы вакцины до 25 чел/доз не приводило к существенному статистически значимому увеличению количества вырабатываемых АОК.

Результаты опытов по определению числа розеткообразующих лимфоцитов в различные сроки после иммунизации представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты опытов по определению числа розеткообразующих лимфоцитов в различные сроки после иммунизации

Группы животных	1-опытная	2-опытная	3-опытная	4-опытная	Контрольная группа	
Вакцинация подкожно (в пересчете доз для белых мышей – тождественных чел-дозам)	15	18	20	25	0,2 ФР в/б	
Количество животных	15	15	15	15	15	
Количество розеткообразующих лимфоцитов на 200 антигенсвязывающих лимфоцитов (в %)	на 3-й день	4,4	4,6	4,6	4,6	-
	на 7-й день	9,8	10,0	10,2	10,6	-
	на 21-й день	11,0	11,4	12,2	11,8	-

При исследовании антигенспецифического розеткообразования в динамике выявлено раннее нарастание этого показателя, причем наиболее высокий уровень (12,2) установлен на 21 сутки исследования у животных, вакцинированных дозой, тождественной 20 чел/дозам.

Обсуждение. *Yersinia pestis* ответственен за большее количество человеческих смертей, чем любой другой известный патоген, и существует во всем мире в эндемичных регионах мира, включая регион четырех углов и Северную Калифорнию в США. Недавние случаи были разбросаны по всему миру, включая Китай и США, с серьезными вспышками на Мадагаскаре в 2008, 2013-2014 годах и, совсем недавно, в 2017-2018 годах [12, с. 1].

Штамм EV и по сей день используется для приготовления живой противочумной вакцины, которая широко применяется во всём мире, в том числе и в Казахстане.

Вакцина представляет собой взвесь живых высушенных в сахарозо-желатиновой среде бактерий вакцинного штамма чумного микроба EV, из которой путём разведения физиологическим раствором готовится суспензия для кожного скарификационного нанесения. Вакцинацию проводят однократно накожным способом. Ревакцинацию осуществляют накожным способом через один год. Введение препарата вызывает формирование активного иммунитета против чумы, который сохраняется до 1 года. В настоящее время во всех энзоотичных по чуме территориях во время интенсивной эпизоотии среди грызунов проводятся профилактические мероприятия ветеринарных специалистов совместно с противочумной службой. Всех верблюдов не реже одного раза в неделю подвергают обработке инсектицидными и акарицидными препаратами и проводят поголовную иммунизацию верблюдов чумной живой вакциной из штамма EV. Использование существующей сухой живой противочумной вакцины из штамма EV, детальное изучение иммунитета на выявление оптимальных прививочных доз для верблюдов является необходимостью, так как дозы были разработаны более 50 лет назад, для производимых в то время серий вакцины, а вакцинные штаммы различаются по своим иммуногенным свойствам.

Исследования, проведенные с целью изучения гуморального иммунитета в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV, показали, что из тождественных для белых мышей человеко-доз, взятых в диапазоне 0,1-30, оптимальной прививочной дозой является 20 чел/доз.

Изучение клеточного иммунитета, проведенного с использованием метода локального гемолиза по выявлению антителообразующих клеток (АОК) установило, что парентеральное введение белым мышам вакцины против чумы верблюдов в дозе для белых мышей, тождественной 18 чел/дозам вызывает выработку АОК в 4 раза больше, а 20 чел/доз в 5 раз больше, чем при введении 15 чел/доз, а увеличение вводимой дозы вакцины до 25 чел/доз не приводило к существенному статистически значимому увеличению количества вырабатываемых АОК.

Изучение клеточного иммунитета, проведенного с использованием метода розеткообразования Т-лимфоцитов у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV, показало раннее нарастание показателя антигенспецифического розеткообразования в динамике, причем наиболее высокий уровень (12,2) установлен на 21 сутки исследования у животных, вакцинированных дозой, тождественной 20 чел/дозам.

Таким образом, по результатам экспериментов, проведенных на лабораторных животных установлено, что из тождественных для белых мышей человеко-доз, взятых в диапазоне 15-25, оптимальной иммуностимулирующей дозой является 20 чел/доз, дальнейшее увеличение доз не дает статистически значимых увеличений показателей клеточного и гуморального иммунитета.

Заключение. Изучение гуморального иммунитета, проведенного с использованием РНГА показало, что на 90 сутки после вакцинации титр антител у животных 2 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 20 чел/дозам и животных 3 группы, привитых в дозе, тождественной для мышей 25 чел/дозам, одинаков. По итогам экспериментов, проведенных на мышах установлено, что из тождественных для белых мышей человеко-доз, взятых в диапазоне 0,1-30, оптимальной прививочной дозой является 20 чел/доз.

Изучение клеточного иммунитета, проведенного с использованием метода локального гемолиза по выявлению антителообразующих клеток (АОК) установило, что парентеральное введение белым мышам вакцины против чумы верблюдов в дозе для белых мышей, тождественной 18 чел/дозам вызывает выработку АОК в 4 раза больше, а 20 чел/доз в 5 раз больше, чем при введении 15 чел/доз, а увеличение вводимой дозы вакцины до 25 чел/доз не приводило к существенному статистически значимому увеличению количества вырабатываемых АОК.

Изучение клеточного иммунитета, проведенного с использованием метода розеткообразования Т-лимфоцитов у белых мышей, иммунизированных чумной сухой живой вакциной EV, показало раннее нарастание показателя антигенспецифического розеткообразования в динамике, причем наиболее высокий уровень (12,2) установлен на 21 сутки исследования у животных, вакцинированных дозой, тождественной 20 чел/дозам.

Экспериментами, проведенными на лабораторных животных установлено, что из тождественных для белых мышей человеко-доз, взятых в диапазоне 15-25, оптимальной иммуностимулирующей дозой является 20 чел/доз, дальнейшее увеличение доз не дает статистически значимых увеличений показателей клеточного и гуморального иммунитета.

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководству Казахстанского центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева и Казахского научно-исследовательского ветеринарного института за предоставленную возможность проведения экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Yang, R., Atkinson, S., Chen, Z., Cui, Y., Du, Z., Han, Y., Sebbane, F., Slavin, P., Song, Y., Yan, Y., Wu, Y., Xu, L., Zhang, Ch., Zhang, Y., Hinnebusch, B. J., Stenseth, N. Ch., Motin, V. L. *Yersinia pestis* and Plague: Some Knowns and Unknowns [Text] / R. Yang, S. Atkinson, Z. Chen, Y. Cui, Z. Du, Y. Han, F. Sebbane, P. Slavin, Y. Song, Y. Yan, Y. Wu, L. Xu, Ch. Zhang, Y. Zhang, B. J. Hinnebusch, N. Ch. Stenseth, V. L. Motin // *Zoonoses*. – 2023. – 3(1). – 1-24 p.

2. Попов, Н.В., Ерешенко, Г.А., Карнауков, И.Г., Кузнецов А.А., Матросов, А.Н., Иванова, А.В., Поршаков, А.М., Ляпин, М.Н., Корзун, В.М., Вержуцкий, Д.Б., Аязбаев, Т.З., Лопатин, А.А., Ашибоков, У.М., Балахонов, С.В., Куличенко, А.Н., Кутырев, В.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз её развития на 2020-2024 гг. [Текст] / Н.В. Попов, Г.А. Ерешенко, И.Г. Карнауков, А.А. Кузнецов, А.Н. Матросов, А.В. Иванова, А.М. Поршаков, М.Н. Ляпин, В.М. Корзун, Д.Б. Вержуцкий, Т.З. Аязбаев, А.А. Лопатин, У.М. Ашибоков, С.В. Балахонов, А.Н. Куличенко, В.В. Кутырев // Проблемы особо опасных инфекций. – 2020. – 1. – 43-50 с.
3. Mahmoudi, A., Krystufek, B., Sludsky, A., Schmid, B., Almeida, A.M.P.D.E., Lei, X., Ramasindrazana, B., Bertherat, E., Yeszhanov A., Stenseth, N.Ch., Mostafavi E.. Plague reservoir species throughout the world [Text] / A. Mahmoudi, B. Krystufek, A. Sludsky, B. Schmid, A.M.P.D.E. Almeida, X. Lei, B. Ramasindrazana, E. Bertherat, A. Yeszhanov, N.Ch. Stenseth, E. Mostafavi // Integrative Zoology. – 2021. – 16(6). – 820-833 p.
4. Абдел, З.Ж., Еруббаев, Т.К., Токмурзиева, Г.Ж., Аймаханов, Б.К., Далибаев, Ж.С., Мусагалиева, Р.С., Жумадилова, З.Б., Мека-Меченко, В.Г., Мека-Меченко, Т.В., Матжанова, А.М., Абдрасилова, А.А., Умарова, С.К., Рысбекова, А.К., Есимсеит, Д.Т., Абделиев, Б.З., Коньратбаев, К.К., Искаков, Б.Г., Белый, Д.Г., Ескермесов, М.К., Кулемин, М.В., Аскар, Ж.С., Калдыбаев, Т.Е., Мухтаров, Р.К., Давлетов, С.Б., Сутягин, В.В., Лездиньш, И.А. Демаркация границ центральноазиатского пустынного природного очага чумы Казахстана и мониторинг ареала основного носителя *Rhombomys opimus* [Текст] / З.Ж. Абдел, Т.К. Еруббаев, Г.Ж. Токмурзиева, Б.К. Аймаханов, Ж.С. Далибаев, Р.С. Мусагалиева, З.Б. Жумадилова, В.Г. Мека-Меченко, Т.В. Мека-Меченко, А.М. Матжанова, А.А. Абдрасилова, С.К. Умарова, А.К. Рысбекова, Д.Т. Есимсеит, Б.З. абделиев, К.К. Коньратбаев, Б.Г. Искаков, Д.Г. Белый, М.К. Ескермесов, М.В. Кулемин, Ж.С. Аскар, Т.Е. Калдыбаев, Р.К. Мухтаров, С.Б. Давлетов, В.В. Сутягин, И.А. Лездиньш // Проблемы особо опасных инфекций. – 2021. – 2. – 71-78 с.
5. Rametov, N.M., Steiner, M., Bizhanova, N.A., Abdel, Z.Zh., Yessimseit, D.T., Mussagalieva, R.S. Mapping Plague Risk Using Super Species Distribution Models and Forecasts for Rodents in the Zhambyl Region, Kazakhstan [Text] / N.M. Rametov, M. Steiner, N.A. Bizhanova, Z.Zh. Abdel, D.T. Yessimseit, R.S. Mussagalieva // Geohealth. – 2023. – 7(11). – 1-15 p.
6. Абделиев, Б.З., Далибаев, Ж.С., Абдел, З.Ж., Еруббаев, Т.К., Барамова, Ш.А., Мека-Меченко, Т.В., Мусагалиева, Р.С., Абдрасилова, А.А., Жумадилова, З.Б., Умарова, С.К., Аймаханов, Б.К., Есимсеит, Д.Т., Рысбекова, А.К., Касенова, А.К., Тойжанов, Б.К., Кульбаева, М.М., Раметов, Н.М., Садовская, В.П. Зонирование территории Республики Казахстан по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов [Текст] / Б.З. Абделиев, Ж.С. Далибаев, З.Ж. Абдел, Т.К. Еруббаев, Ш.А. Барамова, Т.В. Мека-Меченко, Р.С. Мусагалиева, А.А. Абдрасилова, З.Б. Жумадилова, С.К. Умарова, Б.К. Аймаханов, Д.Т. Есимсеит, А.К. Рысбекова, А.К. Касенова, Б.К. Тойжанов, М.М. Кульбаева, Н.М. Раметов, В.П. Садовская // Проблемы особо опасных инфекций. – 2022. – 2. – 64-69 с.
7. Burdelov, L.A. Atlas of the Spread of Particularly Dangerous Infections in the Republic of Kazakhstan [Text] / L.A. Burdelov // Almaty. – 2012. – 232 p.
8. Jerne, N.R., Nordin, A.A. Suppression of Humoral Immunity in Mice following Exposure to Perfluorooctane Sulfonate [Text] / N.R. Jerne, A.A. Nordin // Toxicological Sciences. – 2008. – 104(1). – 144-154 p.
9. Барков, А.М., Баркова, И.А., Алексеев, В.В., Липницкий, А.В., Кулаков, М.Я. Обнаружение антител к протективному антигену *Bacillus anthracis* с использованием реакции непрямой гемагглютинации и твердофазного иммуноферментного метода [Текст] / А.М. Барков, И.А. Баркова, В.В. Алексеев, А.В. Липницкий, М.Я. Кулаков // Проблемы особо опасных инфекций. 2010;3(105):42-45.
10. Гаврилова, М.В., Чернышова, И.Н., Сидорова, Е.В. Роль различных субпопуляций В-клеток в иммунном ответе на Т-независимые антигены 2-го типа [Текст] / М.В. Гаврилова, И.Н. Чернышова, Е.В. Сидорова // Медицинская иммунология. – 2007. – 9(1). – 39-46 с.
11. Баратов, М.О. Розеткообразующие лимфоциты в оценке иммунологического состояния при туберкулезе крупного рогатого скота [Текст] / М.О. Баратов // Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология. – 2019. – 3. – 25-28 с.
12. Rosenzweig, J.A., Hendrix, E.K., Chopra, A.K. Plague vaccines: new developments in an ongoing search [Text] / J.A. Rosenzweig, E.K. Hendrix, A.K. Chopra // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2021. – 105. – 4931-4941 p.

REFERENCES:

1. Yang R., Atkinson S., Chen Z. et al. Yersinia pestis and Plague: Some Knowns and Unknowns. *Zoonoses*, 2023, 3(1), pp. 1-24.
2. Popov N.V., Ereshenko G.A., Karnaukhov I.G. et al. E'pidemiologicheskaya i e'pizooticheskaya obstanovka po chume v Rossiiskoj Federacii i prognoz eyo razvitiya na 2020-2024 gg. [Epidemiological and epizootic situation of plague in the Russian Federation and forecast of its development for 2020-2024]. *Problemy' osobo opasny'h infekcij*, 2020, 1, pp. 43-50. (In Russian)
3. Mahmoudi A., Krystufek B., Sludsky A. et al. Plague reservoir species throughout the world. *Integr Zool.*, 2021, 16(6), pp. 820-833.
4. Abdel Z.Zh., Erubaev T.K., Tokmurzieva G.Zh. et al. Demarkaciya granic central'noaziatskogo pustyn'nogo prirodnogo ochaga chumy' Kazahstana i monitoring areala osnovnogo nositelya *Rhombomys opimus* [Demarcation of the boundaries of the central Asian desert natural focus of plague of Kazakhstan and monitoring the areal of the main carrier of *Rhombomys opimus*]. *Problemy' osobo opasny'h infekcij*, 2021, 2, pp. 71-78. (In Russian)
5. Rametov N.M., Steiner M., Bizhanova N.A. et al. Mapping Plague Risk Using Super Species Distribution Models and Forecasts for Rodents in the Zhambyl Region, Kazakhstan. *Geohealth*, 2023, 7(11), pp. 1-15.

6. **Abdeliyev B.Z., Dalibaev Zh.S., Abdel Z.Zh. et al. Zonirovanie territorii Respubliki Kazakhstan po stepeni napryazhennosti e'pizooticheskoy situacii po chume verblyudov** [Zoning of the territory of the Republic of Kazakhstan depending on the intensity of the epizootic situation for camel pox]. *Problemy' osobo opasny'h infekcij*, 2022, 2, pp. 64-69. (In Russian)
7. **Burdelov L.A. Atlas of the Spread of Particularly Dangerous Infections in the Republic of Kazakhstan.** Almaty, 2012, pp. 232.
8. **Jerne N.R., Nordin A.A. Suppression of Humoral Immunity in Mice following Exposure to Perfluorooctane Sulfonate.** *Toxicological Sciences*, 2008, 104(1), pp. 144-154.
9. **Barkov A.M., Barkova I.A., Alekseev V.V., Lipnitsky A.V., Kulakov M.Ya. Obnaruzhenie antitel k protektivnomu antigenu *Bacillus anthracis* s ispol'zovaniem reakcii nepriamoj gemagglutinacii i tverdogaznogo immunofermentnogo metoda** [Detection of antibodies to the protective antigen *Bacillus anthracis* using the indirect hemagglutination test and the solid-phase immunosorbent assay]. *Problemy' osobo opasny'h infekcij*, 2010, 3(105), pp. 42-45. (In Russian)
10. **Gavrilova M.V., Chernyshova I.N., Sidorova E.V. Rol' razlichny'h subpopulyacij V-kletok v immunnom otvete na T-nezavisimy'e antigeny' 2-go tipa** [The role of different B cell subsets in the immune response to T-independent type 2 antigens]. *Medicinskaya immunologiya*, 2007, 9(1), pp. 39-46. (In Russian)
11. **Baratov M.O. Rozetkoobrazuyushhie limfocity' v ocenke immunologicheskogo sostoyaniya pri tuberkuleze krupnogo rogatogo skota** [Rosette-forming lymphocytes in the assessment of the immunological state in bovie tuberculosis]. *Veterinarnaya mikrobiologiya, virusologiya, e'pizootologiya*, 2019, 3, pp. 25-28. (In Russian)
12. **Rosenzweig J.A., Hendrix E.K., Chopra A.K. Plague vaccines: new developments in an ongoing search.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, 105, pp. 4931-4941.

Сведения об авторах:

Бижанов Алим Байжанович* – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, 050016, г. Алматы, пр. Райымбека 223, тел.: +7-777-370-12-40, e-mail: alimakyntai@mail.ru.

Тугамбаев Тлеули Идрисович – доктор биологических наук, профессор, «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций», Республика Казахстан, 050054, г. Алматы, ул. Капальская, 14, тел.: +7-777-229-61-56, e-mail: polshla1313@gmail.com.

Кайыпбай Берикжан Балапанович – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, 050016, г. Алматы, пр. Райымбека 223, тел.: +7-777-637-71-77, e-mail: bkaiypbay@mail.ru.

Сембина Фатима Егимбаевна – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела бактериологии, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, 050016, г. Алматы, пр. Райымбека 223, тел.: +7-702-787-93-57, e-mail: fatimsem@mail.ru.

Бижанов Алим Байжанович* – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бактериология бөлімінің бас ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 050016, Алматы қ., Райымбек даңғ., 223, тел.: +7-777-370-12-40, e-mail: alimakyntai@mail.ru.

Тугамбаев Тлеули Идрисович – биология ғылымдарының докторы, профессор, «Қазақ карантиндік және зооноздық инфекциялар ғылыми орталығы», Қазақстан Республикасы, 050054, Алматы қ., Капал көш., 14, тел.: +7-777-229-61-56, e-mail: polshla1313@gmail.com.

Кайыпбай Берикжан Балапанович – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бактериология бөлімінің бас ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 050016, Алматы қ., Райымбек даңғ., 223, тел.: +7-777-637-71-77, e-mail: alimakyntai@mail.ru.

Сембина Фатима Егимбаевна – ветеринария ғылымдарының кандидаты, бактериология бөлімінің жетекші ғылыми қызметкері, «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Қазақстан Республикасы, 050016, Алматы қ., Райымбек даңғ., 223, тел.: +7-702-787-93-57, e-mail: fatimsem@mail.ru.

Bizhanov Alim Baizhanovich* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty, 223 Raimbek Ave., tel.: +7-777-370-12-40, e-mail: alimakyntai@mail.ru.

Tugambayev Tleuli Idrisovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections, Republic of Kazakhstan, 050054, Almaty, 14 Kapalskaya str., tel.: +7-777-229-61-56, e-mail: polshla1313@gmail.com.

Kaiypbay Berikzhan Balapanovich – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty, 223 Raimbek Ave., tel.: +7-777-637-71-77, e-mail: bkaiypbay@mail.ru.

Sembina Fatima Yegimbayevna – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher, Department of Bacteriology, Kazakh Research Veterinary Institute LLP, Republic of Kazakhstan, 050016, Almaty, 223 Raimbek Ave., tel.: +7-702-787-93-57, e-mail: fatimsem@mail.ru.