



# **YEVROSIYO PEDIATRIYA AXBOROTNOMASI** **ЕВРАЗИЙСКИЙ ВЕСТНИК ПЕДИАТРИИ**

**TIBBIY ILMIY-INNOVATSION JURNAL**  
**МЕДИЦИНСКИЙ НАУЧНО-ИННОВАЦИОННЫЙ ЖУРНАЛ**



ISSN 2181-712X.

**3(3)**  
**2019**

УДК 612.111.6

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ СХЕМ ИММУНИЗАЦИИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ИММУННЫХ ПРЕЦИПИТИРУЮЩИХ СЫВОРОТОК ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ВИДА КРОВИ**

<sup>1</sup>Попов Вячеслав Леонидович, <sup>2</sup>Чориев Беруний Акбарович,  
<sup>2</sup>Бахриев Ибрагим Исомадинович, <sup>3</sup>Рузиев Шерзод Ибадуллаевич

<sup>1</sup>Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. И.П.Павлова  
<sup>2</sup>Ташкентская медицинская академия,  
<sup>3</sup>Ташкентский педиатрический медицинский институт

**Резюме**

*В данной статье рассматриваются методические подходы к получению специфических преципитирующих сывороток с высоким титром. Разработаны эффективные схемы иммунизации животных для получения иммунных сывороток, основанные на оптимальной комбинации белковых антигенов с иммуностимулятором (10% раствор формалина), обеспечивающий высокий специфический иммунный ответ у 90-95% животных, значительное сокращение сроков иммунизации, материальных и трудовых затрат.*

*Ключевые слова: антиген, антитело, преципитирующие сыворотки, схемы иммунизации.*

**ИММУНИЗАЦИЯ МАҚСАДИДА ЮҚОРИ ТИТРЛИ СПЕЦИФИК ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ЗАРДОБЛАР ОЛИШНИНГ МЕТОДОЛОГИК ЁНДАШУВИ**

<sup>1</sup>Попов Вячеслав Леонидович, <sup>2</sup>Чориев Беруний Акбарович,  
<sup>2</sup>Бахриев Ибрагим Исомадинович, <sup>3</sup>Рузиев Шерзод Ибадуллаевич

<sup>1</sup>И.П.Павлов номли биринчи Санкт-Петербург тиббиёт университети,  
<sup>2</sup>Тошкент тиббиёт академияси,  
<sup>3</sup>Тошкент педиатрия тиббиёт институти

**Резюме**

*Мақолада юқори титрли специфик преципитацияловчи зардоблар олишнинг методологик ёндашуви кўриб чиқилган. Иммун зардобларни олиш учун оқсилли антигенлар ва иммуностимуляторнинг (формалиннинг 10% ли эритмаси) оптимал комбинациясига асосланган, 90-95% ҳайвонларда юқори специфик иммун жавоб реакциясини таъминловчи, иммунизация муддатларини қисқартирувчи, моддий ва меҳнат сарфини тежовчи, ҳайвонларни эмлашнинг самарали схемалари ишлаб чиқилган.*

*Калит сўзлар: антиген, антитана, преципитацияловчи зардоб, иммунизация схемаси.*

**DETERMINATION OF EFFECTIVE IMMUNIZATION SCHEMES IN OBTAINING IMMUNE PRECIPITATING SERUMS FOR INSTALLING A BLOOD TYPE**

<sup>1</sup>Popov Vyacheslav Leonidovich, <sup>2</sup>Choriev Beruniy Akbarovich,  
<sup>2</sup>Bakhriev Ibragim Isomadonovich, <sup>3</sup>Ruziev Sherzod Ibadullaevich

<sup>1</sup>First St. Petersburg Medical University I.P. Pavlova  
<sup>2</sup>Tashkent Medical Academy, 100109, Uzbekistan Tashkent Farobi 2  
<sup>3</sup>Tashkent Pediatric Medical Institute, 100125 Uzbekistan Tashkent, Bogishamol 223

**Resume**

*This article discusses methodological approaches to obtaining specific precipitating high titer serums. Effective animal immunization schemes have been developed for obtaining immune sera based on the optimal combination of protein antigens with an immunostimulant (10% formalin solution), which provides a high specific immune response in 90-95% of animals, a significant reduction in the time of immunization, material and labor costs.*

*Key words: antigen, antibody, precipitating serum, schemes of immunization.*

**Актуальность**

Большинство иммунологических методов исследования предусматривают применение иммунных сывороток, получаемых из крови животных, иммунизированных различными антигенами, при этом их активность существенно влияет на результаты исследования. Для получения иммунных сывороток необходимо подобрать эффективную схему иммунизации животных, которая предусматривает физико-химическое состояние антигена, дозы, способы, интервалы и кратность введения антигена, общие сроки цикла иммунизации, применение адъювантов и иммуностимуляторов [3, 5, 6].

Поиск и внедрение новых высокоэффективных адъювантов для получения преципитирующих сывороток по-прежнему представляет собой актуальную проблему. Ее решение позволит сократить число ревакцинаций, что не только снизит антигенную нагрузку на организм, но также значительно упростит и удешевит сам процесс иммунизации домашних животных. К таким адъювантам предъявляют четкие требования: они должны значительно повышать иммуногенность вакцин и напряженность иммунитета, не обладать токсичностью и аллергенностью.

Алиева Е.В. с соавторами (2008) указывают, что попытки иммунизации кроликов по схеме, состоящей из последовательных многоточечных внутрикожных введений антигена с полным адъювантом Фрейнда, приводили к иммунному ответу лишь у 25-30% иммунизируемых животных, при этом длительность иммунизации составляла 2,5-3 месяца, а у кроликов развивалась адъювантная болезнь. В дальнейшем, в качестве иммуномодулирующего вещества применён феракрил (смесь железных (II, III) солей полиакриловой кислоты), который способен вызывать выраженное увеличение антителообразующих Т- и В-клеток. Изменена схема иммунизации: грундиммунизация включала пять последовательных парентеральных введений смеси антигена с 3% водно-спиртовым раствором феракрила, с интервалами в 3-7 дней. Основной цикл иммунизации состоял из четырех внутривенных инъекций комплекса антиген-антитело через каждые 3-4 дня. При такой схеме иммунизации получили кроличьи гипериммунные сыворотки с высокой специфической активностью в иммунологических реакциях.

Берзина А.Г. с соавторами (2013)

иммунизировали кроликов внутривенно, вводя растворы антигена с адъювантом Фрейнда в соотношении 1:1 в объеме 1,0 мл в краевую ушную вену. Подкожные инъекции осуществляли в 8 точек вдоль хребта с обеих сторон, вводя препарат в объеме 0,25 мл в каждую точку. Предложенная авторами методика иммунизации животных позволяет получить антивидовые антисыворотки с высокими титрами.

Сенченко Б.С. и Гугушвили Н.Н. (2000) для получения преципитирующих сывороток определения видовой принадлежности кролику вводили подкожно 0,3 мл цельной крови и через 5 дней вновь этому же кролику вводили 0,5 мл цельной крови подкожно, затем аналогично по 0,7 и 0,9 мл. Через 5 дней после последней подкожной инъекции вводили внутримышечно 1 мл цельной крови в область бедра и три последних с интервалом 5 дней по 1,5 мл также внутримышечно. Антисыворотки, применяемые для реакции преципитации, обладали специфичностью, т.е. давали преципитат только с сывороткой того вида животного, кровью которого проводилась гипериммунизация.

Известно, что иммунизация кроликов сывороточными белками человека и животных, обработанные формалином, позволяет получить преципитирующие сыворотки высокого титра и специфичности. Обладая высокой реакционной способностью формалин, при смешивании его с сывороткой, вступает в реакцию с сывороточными белками и приводит к образованию молекулярных комплексов, достаточно крупных по размерам и устойчивых к воздействиям гидролитических ферментов [7].

**Цель исследования.** Разработка эффективной схемы иммунизации животных для получения специфических сывороток высокого титра, являющихся пригодными для использования их при определении вида крови.

**Материал и методы**

В качестве антигена для иммунизации кроликов использованы сыворотка крови человека, рогатого скота, птицы, лошади, которые экстрагировались 10% раствором формалина в соотношении 1:1. В опытах были использованы 100 кроликов обоего пола породы Шиншилла и Великан, массой 3-3,5 кг. В качестве контроля к каждой группе иммунизация кроликов по 5 штук (всего 25 шт.) производилась сыворотками соответствующих видов и 0,9% физиологического раствора.

Иммунизация кроликов проводилась по схеме, предложенной Л.И. Ломовицкой (1977) в модификации Д.Д. Джалалова и Р.А. Хасанова (1997). Антиген вводится в краевую вену уха кролика троекратно, интервалом в 1 день и объеме 1 мл/кг веса кролика. Проба крови у иммунизированных животных берётся на 4-й, 7-й и 9-й день после последней инъекции. Титр сывороточных преципитинов определяли реакцией преципитации в пробирках по Чистовичу-Уленгуту, в разведениях антигена 1:1000, 1:5000 и 1:10000 при наблюдении реакции в течение 10 минут. После иммунизации, если титр преципитирующих сывороток не достигал рабочего титра, то проводилась реиммунизация через две недели после последней иммунизации, однократным введением антигена внутривенно.

### Результат и обсуждение

После первичной иммунизации 75 кроликов у 52 (70%) животных титр преципитинов достиг 1:10000 до 10 минут, остальные 23 кролика распределились в три группы в зависимости от титра антител в сыворотках. Преципитины с 1:100 были выявлены в сыворотках 11 кроликов первой группы, с титром 1:1000 у 8 кроликов – второй группы и у 4 кроликов с титром 1:5000 – третьей группы.

После реиммунизации положительный результат был достигнут в 90%-95%. При этом длительность иммунизации составляла 22 дня, титр полученных иммунных преципитирующих сывороток достигал 1:5000 и 1:10000 до 10 минут, смертельных случаев у кроликов не наблюдалось. При такой схеме иммунизации были получены кроличьи гипериммунные сыворотки преципитирующие белок человека, рогатого скота, птицы и лошади с высокой специфической активностью в иммунологических реакциях.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Алиева Е.В., Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н. и др. Опыт получения иммунных сывороток для производства диагностических препаратов. //Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2008; 1: 11-15. [Alieva E.V., Tyumenseva I.S., Afanasev E.N. i dr. Opit polucheniya immunnix sivorotok dlya proizvodstva diagnosticheskix preparatov. //Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorove». 2008; 1: 11-15. (In Russ)]

Преципитирующая сыворотка считается годной для судебно-медицинских исследований, если она имеет титр 1:5000 и 1:10000 до 10 минут, т.е. когда при добавлении ее к гомологичной нормальной сыворотке, разведенной в 5000 и 10000 раз, осадок выпадает в пределах 10 минут и она не дает осадков нормальными изосыворотками других видов, разведенными в 1000 раз в пределах одного часа.

Приведенный материал дает основание считать, что чем более высокий титр преципитинов достигается при первичной иммунизации, тем более интенсивно происходит образование преципитинов при дальнейших введениях антигена. Следовательно, при данной схеме иммунизации - результаты первичной иммунизации, выраженные в единицах титра антител, позволяют в некоторой мере делать прогноз интенсивности выработки кроликами преципитинов при последующих иммунизациях.

### Выводы

1. Разработана новая, эффективная схема иммунизации животных для получения специфических преципитирующих сывороток высокого титра, являющихся пригодными для использования их при определении видовой принадлежности крови.

2. Благодаря применению иммуностимулирующего действия 10% формалина - значительно сокращены длительность процесса иммунизации (22 дня) и получение высокоспецифической сыворотки, при этом повышен выход целевого продукта за счет увеличения антителообразования у животных с одновременным уменьшением трудозатрат.

2. Берзина А.Г., Гамалея Н.Б., Капанадзе Г.Д. Методические подходы к получению антивидовых антисывороток с целью их использования в иммунофармакологических исследованиях. //Биомедицина. 2013; 2: 95-102. [Berzina A.G., Gamaley N.B., Kapanadze G.D. Metodicheskie podxodi k polucheniyu antividovix antisivorotok s selyu ix ispolzovaniya v immunofarmakologicheskix issledovaniyax. //Biomeditsina. 2013; 2: 95-102. (In Russ)]

3. Исаенко Е.Ю., Бабич Е.М., Елисеева И.В. и др. Адъюванты в современной вакцинологии. //ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины». – 2013; 4. [Isaenko E.Yu., Babich E.M., Eliseeva I.V. i dr. Ad'yuvanti v sovremennoy vaksinologii. //GU «Institut mikrobiologii i immunologii im. I.I.Mechnikova Natsionalnoy akademii meditsinskix nauk Ukraini». 2013; 4. (In Russ)]
4. Сенченко Б.С., Гугушвили Н.Н. Способ получения преципитирующих сывороток для определения видовой принадлежности мяса домашних и диких животных. //Патент №А61К39/395., 2000. [Senchenko B.S., Gugushvili N.N. Sposob polucheniya pretsipitiruyushix sivorotok dlya opredeleniya vidovoy prinadlejnosti myasa domashnix i dikix jivotnix. //Patent №А61К39/395., 2000. (In Russ)]
5. Aguilar J.C. et al. Vaccine adjuvants revisited. //Vaccine. 2007; 25: 3752-3762.
6. Antu K Dey Novel. Adjuvants and delivery systems for enhancing immune responses induced by immunogens. //Expert Review of Vaccines. 2011; 10(2): 227-251.
7. Dapson R.W. Macromolecular changes caused by formalin fixation and antigen extraction //Biotechnology and histochemistry. 2007; 82(3): 133-140.

Поступила 09.09. 2019

**ЗАГОТОВКАМИ В ВИДЕ ГРАНУЛ ДЛЯ  
ПРОТЕЗИРОВАНИЯ ЛИЦ,  
РАБОТАЮЩИХ В АЛМАЛЫКСКОМ И  
НИЖНЕТАГИЛЬСКОМ  
МЕТАЛЛУРГИЧЕСКИХ КОМБИНАТАХ  
.....201**

*Назирова З.Р., Туракулова Д.М.,  
Мусабаева Р.Ш.*

**АЛГОРИТМ ПОДГОТОВКИ К  
ХИРУРГИЧЕСКОМУ ЛЕЧЕНИЮ  
ПЕРВИЧНОЙ ВРОЖДЕННОЙ  
ГЛАУКОМЫ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО  
ВОЗРАСТА.....209**

*Отамуратов Ф.А., Эргашев Н.Ш.*  
**ДИАГНОСТИКА И РЕЗУЛЬТАТЫ  
ЛЕЧЕНИЯ  
ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ КЛОАКИ  
.....215**

*Рахимов О.У., Турсуметов А.А.,  
Жамалов Ж.Б.*  
**ВНУТРИБРЮШНЫЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ  
ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ  
ХОЛЕЦИСТЭКТОМИИ.....223**

*Рахманкулова З.Ж., Ходжамова Н.К.,  
Абдукадирова М.К.*  
**СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ  
МИКРОЭЛЕМЕНТОВ У  
НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С  
ЗАДЕРЖКОЙ ВНУТРИУТРОБНОГО  
РАЗВИТИЯ.....228**

*Рахманова Ж.А.*  
**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ РАКА ШЕЙКИ  
МАТКИ.....236**

*Ходжанов И.Ю., Рузикулов У.Ш.,  
Нурмухамедов Х.К., Расулов Х.А.,  
Нарзикулов У.К.*  
**СТРУКТУРА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ В ТКАНЯХ  
ГРУДИННО-РЕБЕРНОГО КОМПЛЕКСА  
У ДЕТЕЙ ПРИ ВОРОНКООБРАЗНОЙ  
ДЕФОРМАЦИИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ  
.....243**

*Ташпулатова Ф.К., Хакимов М.А.,  
Шамшиева Н.Н., Медведева Н.В.,  
Курбанов А.Х., Мухтермова В.Н.*  
**ЗНАЧИМОСТЬ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ**

**СВОЕВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ  
ТУБЕРКУЛЕЗА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ  
.....250**

*Турсуметов А.А., Аскаргов Т.А.,  
Жафаров Х.М., Мирхосилов М.М.*  
**ДИАГНОСТИКА И ХИРУРГИЧЕСКОЕ  
ЛЕЧЕНИЕ ЯЗВ ЖЕЛУДКА II ТИПА  
.....256**

*Файзырахманова М.М., Рахманова Ж.А.*  
**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ВИРУСА ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА  
УЖЕ СОКОГО КАНЦЕРОГЕННОГО РИСКА  
У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО  
ВОЗРАСТА  
.....264**

*Хасанова Г.М., Агзамова Ш.А.*  
**ДИСБАКТЕРИОЗ КИШЕЧНИКА -  
ФАКТОР РИСКА ВСЕРДЕЧНО-  
СОСУДИСТОМ КОНТИНУУМЕ  
.....271**

*Эргашев Н.Ш., Рахматуллаев А.А.*  
**ЛОБАРНАЯ ЭМФИЗЕМА В СТРУКТУРЕ  
ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ  
БРОНХОЛЕГОЧНОЙ СИСТЕМЫ У  
ДЕТЕЙ.....279**

*Daminova Sh.B., Mirsalikhova F.L.,  
Mukhamedova M.S., Rakhmatullaeva D.U.*  
**EFFICIENCY OF APPLICATION OF  
CYTOLOGICAL INDICATORS IN  
DIAGNOSTICS OF CHRONIC CATARAL  
GINGIVITIS IN SCHOOL CHILDREN  
.....287**

**ИЛМИЙ-ЭКСПЕРЕМЕНТАЛ ТИББИЁТ  
НАУЧНО-ЭКСПЕРЕМЕНТАЛЬНАЯ  
МЕДИЦИНА**

*Попов В.Л., Чориев Б.А., Бахриев И.И.,  
Рузиев Ш.*  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭФФЕКТИВНЫХ СХЕМ  
ИММУНИЗАЦИИ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ  
ИММУННЫХ ПРЕЦИПИТИРУЮЩИХ  
СЫВОРОТОК ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ  
ВИДА КРОВИ .....291**