

УДК 616.48-576.851.49

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ «ДОЗА - ЭФФЕКТ» ПРИ ИММУНИЗАЦИИ СТАФИЛОКОККОВЫМ АНАТОКСИНОМ

Маматова Муборак Нурпулатовна

и.о.профессора кафедры клинической лабораторной диагностики и клинической лабораторной диагностики ФПДО Самаркандский государственный медицинский университет Узбекистан, Самарканд.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.13865815>

**Аннотация:** Мы поставили перед собой задачу изучить зависимость «доза - эффект» при заражении иммунизированных стафилококковым анатоксином мышей разными штаммами стафилококка. Животных иммунизировали подкожно двукратно с 14-дневным интервалом очищенными анатоксинами серии № 22 (с содержанием 20 ЕС/мл) и 29 (12 ЕС/мл) и высокоочищенным анатоксином серии № 41 (30 ЕС/мл). Все препараты были полностью сорбированы  $Al(OH)_3$ . Проведенные эксперименты позволяют считать, хотя и с известными оговорками, что при двукратной иммунизации белых мышей стафилококковым анатоксином на каждую прививку целесообразно брать дозу антигена, равную 1 ЕС.

Автором изучена зависимость иммунологического эффекта от дозы очищенного сорбированного на  $Al(OH)_3$  стафилококкового анатоксина при двукратной иммунизации белых мышей. Изучались титры антитоксина в сыворотке крови и резистентность мышей к заражению микробной культурой 7 различных штаммов стафилококков. Между дозой анатоксина и уровнем антитоксина в сыворотке иммунизированных животных существовала прямая тесная корреляция. Напротив, между дозой анатоксина и резистентностью мышей к заражению микробной культурой стафилококков не было выявлено выраженной корреляции. Устойчивость животных в значительной степени зависела от свойств штаммов, используемых для заражения. В экспериментах по изучению резистентности иммунизированных мышей к культуре стафилококков, по-видимому, целесообразно брать 1 БЕ (единицу связывания) анатоксина на каждую иммунизацию.

**Ключевые слова:** иммунологический эффект, резистент, антитоксин, эксперимент, стафилококковая культура.

## EXPERIMENTAL STUDY OF THE “DOSAGE-EFFECT” RELATIONSHIP IN IMMUNIZATION WITH STAPHYLOCOCCAL TOXOID

**Abstract:** We set ourselves the task of studying the dose-effect relationship during infection of mice immunized with staphylococcal anatoxin with different strains of staphylococcus. The animals were immunized subcutaneously twice with a 14-day interval with purified anatoxins of series No. 22 (containing 20 EU/ml) and 29 (12 EU/ml) and highly purified anatoxin of series No. 41 (30 EU/ml). All preparations were completely sorbed by  $Al(OH)_3$ . The experiments conducted allow us to consider, although with certain reservations, that during double immunization of white mice with staphylococcal anatoxin for each vaccination it is advisable to take a dose of antigen equal to 1 EU.

The author studied the dependence of immunological effect on the dose of purified sorbed on  $Al(OH)_3$  staphylococcal toxoid in double immunization of albino mice. The antitoxin titres in blood serum and the resistance of mice to challenge with microbial culture of 7 various staphylococcal strains were examined. Direct close correlation existed between the dosage of

toxoid and the level of antitoxin in sera of immunized animals. On the contrary, no marked correlation was found between the dosage of toxoid and the resistance of mice to challenge with microbial culture of staphylococci. The resistance of animals to a great extent depended on the properties of strains used for the challenge. In experiments dealing with examination of the resistance of immunized mice to staphylococcal culture apparently it is expedient to take I BU (binding unit) of toxoid each immunization.

**Keywords:** immunological effect, resistance, antitoxin, experiments, staphylococcal culture.

## ВВЕДЕНИЕ

Изучение зависимости иммунологического эффекта от дозы антигена, помимо определенного теоретического интереса, имеет и практическое значение. Последнее связано с подбором оптимальных доз антигенов при иммунизации животных разных видов, а также с определением наиболее эффективных схем прививок при контроле иммунологических препаратов. Применительно к разным анатоксинам эти вопросы разработаны далеко не одинаково. Хорошо они изучены в отношении столбнячного и дифтерийного анатоксинов и слабо - в отношении стафилококкового [1, 2, 4].

Многочисленными экспериментами показано, что при иммунизации животных дифтерийным и столбнячным анатоксинами зависимость между дозой антигена и иммунологическим эффектом в довольно широком интервале доз приближается к прямолинейной регрессии при соответствующей трансформации экспериментальных данных: дозы антигена - в логарифмы, показатели эффекта - в логарифмы антитоксических титров или пробиты летальности (выживаемости). Результаты обоих методов оценки иммунологического эффекта (уровень антитоксина в крови привитых животных и их устойчивость к соответствующему токсину) совпадали. Это понятно, если учесть, что экзотоксины играют основную роль в патогенезе дифтерии и столбняка [3, 5].

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Со стафилококковой инфекцией, в патогенезе которой большое значение имеет не только  $\alpha$ -токсин, но и ряд других факторов токсической и ферментативной природы, дело обстоит значительно сложнее. Так как, устойчивость иммунизированных животных (мыши, кролики) к стафилококковому  $\alpha$ -токсину соответствует уровню антитоксина в их крови, нам кажется более правильным, учитывая патогенеза этой инфекции, испытывать устойчивость привитых животных не только к токсину, но и к достаточно вирулентной микробной культуре [6].

В литературах сообщается, что уровень иммунитета к разным штаммам стафилококка может быть различным [9, 10].

В связи с этим мы поставили перед собой задачу изучить зависимость «доза - эффект» при заражении иммунизированных стафилококковым анатоксином мышей разными штаммами стафилококка. Одновременно у привитых мышей исследовали уровень стафилококкового антитоксина в крови. Было поставлено 4 опыта примерно на 80 мышах. Животных иммунизировали подкожно двукратно с 14-дневным интервалом очищенными анатоксинами серии № 22 (с содержанием 20 ЕС/мл) и 29 (12 ЕС/мл) и высокоочищенным анатоксином серии № 41 (30 ЕС/мл). Все препараты были полностью сорбированы  $Al(OH)_3$ . Разные дозы анатоксинов вводили мышам в одном и том же объеме (0,5 мл) при постоянном содержании гидроокиси алюминия (3 мг  $Al_2O_3$  в 1 мл).

Внутрибрюшинное заражение животных отмытой суточной агаровой культурой стафилококков и взятие крови для определения уровня антитоксина проводили на 8-й день после второй прививки. Для заражения животных мы взяли токсигенные штаммы О-15, Л-17, Б-42, Т-89, Л-23, слаботоксигенный штамм Б-28 и нетоксигенный штамм 20 Р. Учитывали сроки гибели животных и для каждой группы мышей, иммунизированных одной дозой антигена, определяли показатель вирулентности штамма  $V$  и иммунологический индекс  $I$ . Уровень антитоксина определяли в смеси сывороток, полученных от 4 мышей. Третий опыт был специально посвящен изучению титров антитоксина. Каждой дозой антигена прививали группу из 24 мышей и определяли количество антитоксина для каждой из 6 подгрупп (по 4 мыши), после чего вычисляли средний геометрический титр антитоксина для данной группы животных.

В первую очередь следует отметить, что иммунологический эффект в значительной степени зависел от того, каким штаммом заражали иммунизированных мышей. Уровень иммунитета против штаммов Л-17 и Л-23 был высоким, против штаммов О-15, Т-89 и Б-42 - средним и против штаммов Б-28 и 20 Р иммунитета практически не наблюдалось.

Чтобы установить наличие или отсутствие связи между дозой антигена и иммунологическим эффектом, мы вычисляли коэффициент корреляции  $r$ , где  $x$  - lg дозы антигена,  $y$  - иммунологический индекс  $I$  или lg титра антитоксина [7, 8, 11].

Коэффициент корреляции, полученный при обработке результатов третьего опыта, указывал на наличие тесной прямой связи между дозой стафилококкового анатоксина и титром антитоксина в крови привитых мышей, что подтверждалось также и графическим изображением этой связи.

Для установления характера связи данные третьего опыта были подвергнуты дисперсионному анализу, результаты которого показали, что зависимость титра антитоксина от дозы его в исследованном интервале доз антигена выражалась прямолинейной регрессией и подчинялась следующему уравнению:

$$y = 0,16 + 0,72(x - 1,94),$$

где  $x$  - lg дозы анатоксина в ЕС, а  $y$  - lg антитоксического титра в АЕ. Результаты титрования антитоксина в первом и четвертом опытах согласовывались с выявленной закономерностью. Следовательно, обнаруженная при иммунизации стафилококковым анатоксином зависимость между дозой антигена и эффектом, выраженным в титрах антитоксина, не отличалась от выявленной при вакцинации другими анатоксинами.

Совершенно другая картина наблюдалась, когда мы изучали иммунологические индексы, полученные при заражении иммунизированных животных разными штаммами стафилококка. В большинстве случаев вычисленные коэффициенты корреляции указывали либо на отсутствие связи между дозой и эффектом, либо на весьма слабую связь, причем иногда она носила обратный характер, т.е., при увеличении дозы анатоксина иммунологический эффект проявлял тенденцию к снижению (штаммы Л-17, Б-28, 20 Р, Л-23 - серия № 9).

Исключение составляли результаты, полученные при иммунизации мышей высокоочищенным анатоксином серии № 13 и последующем заражении их штаммом Л-23: высокий коэффициент корреляции (0,88) указывал на наличие тесной связи между дозой антигена и иммунологическим эффектом.

В целом, однако, приходится признать, что заметной зависимости между дозой стафилококкового анатоксина и устойчивостью мышей к заражению микробной культурой

нам обнаружить не удалось. Учитывая наличие тесной связи между дозой анатоксина и титром его в крови привитых мышей, можно прийти к заключению об отсутствии четко выраженной зависимости между уровнем стафилококкового антитоксина у иммунизированных животных и их устойчивостью против микробной культуры стафилококка.

Причина этого явления не вполне ясна, однако есть основание думать, что при иммунизации стафилококковым анатоксином у мышей, помимо антитоксина, появляются антитела, не связанные с последним, которые тоже способствуют повышению устойчивости привитых животных против микробной культуры. Это может быть связано с наличием в препарате анатоксина дополнительных антигенов, отличных от  $\alpha$ -анатоксина. Интересен тот факт, что наиболее четкое совпадение между титром антитоксина и устойчивостью животных против микробной культуры наблюдалось при иммунизации мышей анатоксином серии № 13, максимально очищенным от других антигенов. Кроме того, иммунологический эффект в значительной мере связан со свойствами штаммов, применяемых для заражения мышей.

Соотношение разных факторов, определяющих вирулентность различных штаммов стафилококка для экспериментальных животных, широко варьирует, что не могло не сказаться на результатах заражения как неиммунных, так и иммунных мышей.

Оставалось сделать вывод о целесообразности применения той или иной дозы стафилококкового анатоксина в иммунологических экспериментах на мышах. Основываясь на величине антитоксических титров, можно было прийти к заключению, что оптимальный эффект обеспечивала доза, равная 10 ЕС. Однако эта доза слишком велика для того, чтобы использовать ее в повседневных экспериментах. Кроме того, нет оснований считать ее оптимальной в обычном понимании этого слова, поскольку характер зависимости «доза – эффект» указывает на возможность получения более высоких титров антитоксина при использовании больших доз анатоксина. Более целесообразно выявить оптимальную дозу антигена по результатам испытания устойчивости иммунизированных мышей к микробной культуре. Здесь, однако, мешают отмеченные выше трудности, связанные с отсутствием четкой зависимости между дозой анатоксина и иммунологическим индексом. Мы считаем, хотя и с известными оговорками, что при двукратной иммунизации мышей наиболее целесообразно на каждую при прививку использовать дозу стафилококкового анатоксина, равную 1 ЕС. Эта доза обусловила наилучший иммунологический эффект в отношении штамма Л-23 и достаточно хороший - в отношении штамма Л-17. Кроме того, согласно приведенной выше формуле, 1 ЕС анатоксина соответствовал антитоксический титр, равный 1,6 АЕ, т.е. вполне достаточный для защиты мышей от смертельной дозы  $\alpha$ -токсина.

## **ВЫВОДЫ**

1. При иммунизации белых мышей разными дозами стафилококкового анатоксина обнаружена тесная прямолинейная связь между дозой антигена и уровнем стафилококкового антитоксина в крови привитых животных.

2. Результаты испытания устойчивости иммунизированных мышей против микробной культуры различных штаммов стафилококка зависели в значительной степени от штамма, которым заражали животных, и лишь в небольшой степени - от дозы анатоксина.

3. Проведенные эксперименты позволяют считать, хотя и с известными оговорками, что при двукратной иммунизации белых мышей стафилококковым анатоксином на каждую прививку целесообразно брать дозу антигена, равную 1 ЕС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акатов А.К., Зуева В.С. Стафилококки // -М.:Медицина. -1983.-С. 256.
2. Кадыров Ж.Ф., Маматова М.Н., Осланов А.А. Влияние пандемии Covid-19 на борьбу с туберкулезом // Биология ва тиббиёт муаммолари. Илмий журнал. -2023, №1 (142).
3. Куанова Г.С. Стафилококки и стафилококковые инфекции бактериологические аспекты профилактики стафилококковых заболеваний // Вестник Атырауского университета. 2018;49(2):147-151.
4. Маматова М.Н. Study of the biological properties of rabies by the method of diagnosis of the "Gold standard" // Scientific Journal, Colden Brain. -2024, Volum 2 (4).
5. Негодова Е.В. Распространенность респираторных заболеваний среди детей гарнизона, роль стафилококковой инфекции в этиологии заболеваний органов дыхания // Глав.врач Юга России. 2011. №1 (24).
6. Николаева И. В., Анохин В. А. Стафилококковые инфекции в педиатрии // ПМ. 2010. №4.
7. Шайкулов Х.Ш., Исокулова М.М., Маматова М.Н. Степень бактериоциногенности антибиотикорезистентных штаммов стафилококков, выделенных в Самарканде // Eurasian journal of medical and natural sciences. -2023, № 3(1).
8. Чернова О.Л. Антилизосимная активность стафилококков, выделенных при бактерионосительстве // Автореф. дис. канд. биол. наук. Челябинск, 1989. - С. 22.
9. Baselga R. Staphylococcus aureus capsule and slime as virulence factors in ruminant mastitis // Vet. Microbiol. -1994.-V.39.-N.3-4.-P. 195-204.
10. Corbella X. Staphylococcus aureus nasal carriage as marker for subsequent staphylococcal infections in intensive care unit patients // Eur. J. Clin. Microbiol. Infekt. Dis.-1997. - Vol.16, №5.-P.351-357.
11. Welsch M. Le "lysozyme" des Staphylocoques. Compt. Rend // Soc. Biol.-1959. -Vol. 153.-P.2080-2083.