

ПОЛУЧЕНИЕ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Абдураимов Е.О. ¹, Умуралиев Б.К. ^{1*}, Сейсенбаева М.С. ¹, Жақыпбек А.С. ¹, Рсалиев А.С. ², Исакан А.А. ¹, Оразымбетова Н.К. ¹, Каукарбаева М.Ж. ¹, Жугунисов К.Д. ¹, Кондибаева Ж.Б. ¹, Кошематов Ж.К. ¹

¹ТОО Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Гвардейский, Казахстан

²АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» Астана, Казахстан

Автор-корреспондент – b.umuraliyev@biosafety.kz

АБСТРАКТ

В настоящем исследовании представлены результаты получения гипериммунной сыворотки против возбудителя сибирской язвы (*Bacillus anthracis*). В качестве антигенного материала использовали очищенные и инактивированные штаммы «СТИ-1», «78/НИИПББ» и «Сибирезвенная культура (матрица №71, вторая вакцина Ценковского)». Для ускоренного получения специфических антител были применены различные схемы гипериммунизации с использованием овец, коз и кроликов. Иммунизация проводилась с адьювантами различной природы — полным адьювантом Фрейнда, гидроксидом алюминия и Montanide ISA-70 — в соотношении антиген:адьювант 1:1. Динамику нарастания титров антител оценивали в реакциях диффузионной преципитации и непрямой гемагглютинации. Установлено, что максимальные титры антител регистрировались у коз и кроликов на 21-е сутки после иммунизации, достигая 1:2560, что свидетельствует о выраженном иммунном ответе при использовании комбинированных схем введения антигена. Результаты подтверждают эффективность подбора оптимальной схемы гипериммунизации и возможность применения мелких лабораторных и сельскохозяйственных животных для получения гипериммунных сывороток против *Bacillus anthracis*. Проведённые исследования создают основу для разработки ускоренных и экономичных методов производства специфических сывороточных препаратов.

Ключевые слова: Сибирская язва, реакция диффузионной преципитации, реакция непрямой гемагглютинации, иммунизация, сыворотка.

ВВЕДЕНИЕ.

Сибирская язва — это острое инфекционное заболевание, поражающее широкий круг животных, включая сельскохозяйственных и диких, а также человека. Возбудителем болезни является спорообразующая бактерия *Bacillus anthracis*. Несмотря на развитие профилактических и противоэпидемических мероприятий, случаи заболевания продолжают регистрироваться как среди животных, так и среди людей во многих странах мира [1–4].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на сегодняшний день сибирская язва остаётся эндемичной для 158 стран, ежегодно регистрируется от 2 000 до 20 000 случаев заболевания у людей. Наиболее неблагоприятные регионы расположены в Африке, Азии, Южной и Центральной Америке, на Ближнем Востоке и в Карибском бассейне [5].

Эпизоотическая и эпидемиологическая ситуация по сибирской язве в Республике Казахстан остаётся нестабильной. Каждый год регистрируются новые случаи заболевания. Так, в 2016 году в Алмагинской, Восточно-Казахстанской и Карагандинской областях было зафиксировано 13 случаев заражения [6]. На сегодняшний день на территории Казахстана зарегистрировано множество населённых пунктов, неблагоприятных по сибирской язве. Полная ликвидация инфекции затруднена из-за наличия естественных очагов возбудителя, связанных со скотомогильниками и скотопрогонными маршрутами. Дополнительным фактором риска служит возможность заражения животных спорами, сохраняющимися в почве, что поддерживается антропогенной деятельностью и особенностями

профессиональной занятости населения [7–8].

Для предупреждения и ликвидации вспышек заболевания необходимо внедрение эффективных методов мониторинга и контроля, включающих регулярное обследование животных и быструю идентификацию возбудителя [9]. Своевременная диагностика позволяет оперативно выявлять заболевание, что критически важно для предотвращения его распространения и снижения эпизоотического риска [10].

В последние годы особое внимание уделяется разработке иммунобиологических препаратов, основанных на специфических антителах, которые применяются не только в серологических тестах, но и в иммунохимических и молекулярно-диагностических системах. Гипериммунные сыворотки, содержащие высокие титры антител против антигенов *B. anthracis*, широко используются для постановки реакций преципитации, агглютинации, иммунофлуоресценции и иммуноферментного анализа, что значительно повышает точность лабораторной диагностики [11–13].

Учитывая эпизоотическую нестабильность территории Казахстана и ограниченное количество коммерчески доступных антительных препаратов, получение отечественных гипериммунных сывороток против возбудителя сибирской язвы представляется особенно актуальным. Такие препараты могут быть использованы как диагностические реагенты в ветеринарной лабораторной практике, а также как компонент системы эпизоотического надзора [14–16].

В связи с этим целью настоящей работы является по-

лучение гипериммунной специфической сыворотки против возбудителя сибирской язвы на различных видах животных для последующего применения в диагностических и профилактических целях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для получения гипериммунной сыворотки против возбудителя сибирской язвы использовали очищенные антигены штаммов *Bacillus anthracis* «СТИ1», «78/НИИПББ» и культуру, известную как «Сибирезвенная культура (матрица № 71, вторая вакцина Ценковского)». Антигены инактивировали стандартными методами, обеспечивая сохранение иммуногенности при исключении вирулентности возбудителя [17-18].

Экспериментальные животные. В исследовании использовали двух овец и двух коз возрастом 6 месяцев, а также четырех кроликов с живой массой до 2,5 кг. Все животные были клинически здоровы [19-20]. Перед началом иммунизации проводили серологический контроль на антитела к распространенным инфекциям (чума мелких жвачных, нодулярный дерматит, оспа овец, бруцеллез, ящур типов «А» и «О», пастереллез и сибирская язва). Результаты показали отсутствие специфических антител.

Схема иммунизации. Разработано восемь схем иммунизации, различавшихся по антигену, пути введения, типу адьюванта, концентрации и интервалам между введениями:

Кролики:

Кролик №1: Первая инъекция через 7 сут после начальной иммунизации; антиген: 78/НИИПББ, 1,5 см³, 1,957 мг/мл; путь введения: лимфатические узлы задних ног + брюшная полость; полный адьювант Фрейнда (ПАФ), смешанный с антигеном в соотношении 1:1. Вторая и третья инъекции — аналогично первой, интервал между введениями — 7 сут.

Кролик №2: Первая через 14 сут; 78/НИИПББ, 0,5 см³, 65,7 мг/мл + гидроксид алюминия (ГОА) 0,2 %; лимфатические узлы задних ног. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ 1 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 1 см³, 83,85 мг/мл.

Кролик №3: Первая через 14 сут; СТИ1, 0,5 см³, 117,7 мг/мл + ГОА 0,2 %. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ, 1 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 1 см³.

Кролик №4: Первая через 21 сут; 78/НИИПББ, 1 см³, 83,85 мг/мл + ГОА 0,2 % + внутривенно 1 см³.

Овцы и козы:

Овца №1: Первая через 14 сут; 78/НИИПББ, 2 см³, 65,7 мг/мл + ГОА 0,2 % в предлопаточные лимфатические узлы. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ, 2 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 3 см³, 83,85 мг/мл.

Овца №2: Первая через 21 сут; 78/НИИПББ, 2 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 3 см³, 83,85 мг/мл. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ, 2 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 2,6 мг/мл, 3 см³.

Коза №1: Первая через 14 сут; 78/НИИПББ, 2 см³ + ГОА 0,2 %. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ, 2,5 см³ + ГОА 0,25 % + внутривенно 3 см³, 83,85 мг/мл. Третья через 7 сут; СТИ1, 3 см³ + ГОА 0,2 % + внутривенно 3 см³,

43,2 мг/мл.

Коза №2: Первая через 21 сут; 78/НИИПББ, 2,5 см³ + ГОА 0,25 %. Вторая через 7 сут; 78/НИИПББ, 3 см³ + Montanide ISA-70 (1:1) в предлопаточные лимфатические узлы [21-22].

Забор крови и получение сыворотки. Кровь у овец и коз брали из яремной вены, у кроликов — из краевой вены уха. После завершения эксперимента осуществляли тотальное обескровливание: у кроликов — из сердца, у овец и коз — из яремной вены. Сыворотку отделяли от сгустка после инкубации при 37 °С (60 мин) и выдерживания при 4 °С (24 ч), декантировали стерильными пипетками и хранили при +4 °С до анализа [23].

Оценка активности сывороток. Титр антител определяли каждые 7 дней после иммунизации с использованием реакции диффузии в геле (РДП) и реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) [24].

Этические аспекты. Все работы с животными проводились в соответствии с Законом об ответственном обращении с животными (Закон Республики Казахстан от 30 декабря 2021 года № 97-VII ЗРК) и соответствующими руководящими принципами. Планы исследований были рассмотрены и одобрены экспертной комиссией по биоэтике Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (№0111/023) до начала исследований, а также организационные вопросы, рабочие процедуры и рекомендации, касающиеся ухода за животными, соблюдались на протяжении всех исследований [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Титры антител определяли в реакции диффузионной преципитации (РДП) в агаровом геле и реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с использованием эритроцитарного диагностикума, сенсibilизированного антигеном *Bacillus anthracis*. Обе методики показали схожую динамику формирования гуморального иммунного ответа. Отмечается постепенное увеличение титров антител у всех подопытных животных, с достижением максимальных значений на 21-е сутки после иммунизации. После проведения курса иммунизации у всех животных наблюдалось формирование специфических антител к антигенам *Bacillus anthracis*, подтвержденное серологическими реакциями. Уже через 7 суток после второй инъекции у кроликов и коз отмечались положительные результаты реакции диффузионной преципитации (РДП) при разведениях 1:4–1:8. К 21-му дню титры повышались до 1:32–1:64. Максимальные показатели зарегистрированы у кроликов и коз, иммунизированных с применением полного адьюванта Фрейнда (ПАФ) и Montanide ISA-70 (схемы № 1, 4, 7 и 8).

У овец титры антител в РДП достигали 1:16, что несколько ниже, чем у кроликов (1:32–1:64) и коз (1:64–1:128). Полученные результаты указывают на видовые различия иммунного ответа, а также на зависимость эффективности от типа адьюванта и кратности введения антигена.

Использование гидроксида алюминия обеспечивало умеренный, но стабильный иммунный ответ: преципитационные линии в агаре формировались на 7–14-е сутки

Таблица 1 – Показатели титра антител в сыворотках крови животных

Схема	Вид животного	Адьювант	Проявление преципитационных линий	Максимальный титр антител
№ 1	Кролик	ПАФ	На 7-е сутки	1:64
№ 2	Кролик	ГОА	На 7-е сутки	1:32
№ 3	Кролик	ГОА	На 7-е сутки	1:32
№ 4	Кролик	ПАФ	На 7-е сутки	1:64
№ 5	Овца	ГОА	На 14-е сутки	1:16
№ 6	Овца	ГОА	На 14-е сутки	1:16
№ 7	Коза	ГОА	На 14-е сутки	1:64
№ 8	Коза	Montanide ISA-70	На 7-е сутки	1:128

после ревакцинации и сохранялись до конца эксперимента. При применении масляных адьювантов преципитационные линии были более чёткими и интенсивными, что свидетельствует о повышенной концентрации антител в сыворотке крови [26].

Результаты РДП изложены в таблице 1.

Наиболее выраженные преципитационные линии наблюдались при использовании масляных адьювантов (ПАФ и Montanide ISA-70), что свидетельствует о формировании высокоспецифичных антител.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА) подтвердила данные РДП. Титры антител у кроликов и коз достигали 1:1280–1:2560 в группах, где применялись ПАФ и Montanide ISA-70. У овец, иммунизированных с гидроксидом алюминия, титры составляли 1:320–1:640. Это указывает на более низкую, но стабильную стимуляцию антителообразования.

Результаты РНГА изложены на рисунке 1.

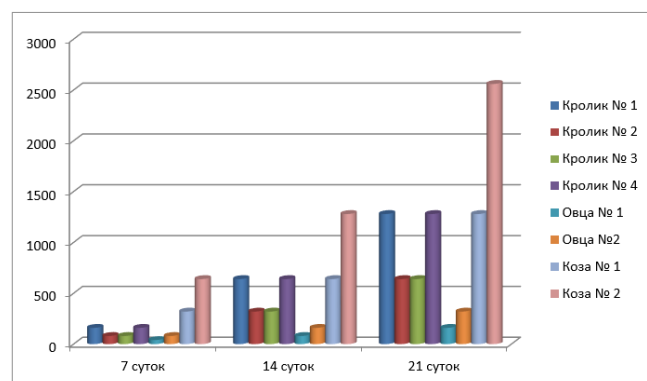


Рисунок 1. Динамика титров антител у различных видов животных после иммунизации антигенами *Bacillus anthracis*.

Наибольшие титры антител регистрировались у коз №2 (1:2560) и коз №1 (1:1280) на 21-е сутки после иммунизации, что указывает на выраженный иммунный ответ. У кроликов титр достигал 1:1280 (особи №1 и №4), тогда как у овец показатели были ниже — от 1:160 до 1:320.

Анализ полученных данных показал, что формирование антительного ответа происходило постепенно и зависело как от вида животного, так и от схемы иммунизации. Уже на 7-е сутки после введения антигена регистрировались низкие титры антител (в пределах 1:80–1:320). К 14-м суткам наблюдалось значительное нарастание

уровня специфических антител, а максимальные значения зафиксированы на 21-е сутки.

Наиболее высокий титр антител отмечен у козы №2 (1:2560) и у козы №1 (1:1280), что свидетельствует о высокой иммуногенности применённого антигена в сочетании с ГОА и Montanide ISA-70. У кроликов титр достигал 1:1280, при этом введение антигена с полным адьювантом Фрейнда вызывало более выраженный ответ по сравнению с ГОА. У овец наблюдался умеренный уровень антител (до 1:320), что, вероятно, связано с физиологическими особенностями их иммунного ответа и типом применённого адьюванта.

Таким образом, наиболее эффективными оказались схемы иммунизации, включающие комбинацию антигенов штаммов *B. anthracis* 78/НИИПББ и СТИ-1 с применением Montanide ISA-70 и гидроксида алюминия в соотношении 1:1.

Совпадение результатов РДП и РНГА подтверждает специфичность полученных гипериммунных сывороток и их пригодность для дальнейшего использования в серологических тестах и диагностических целях [27-28].

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о формировании выраженного иммунного ответа у подопытных животных после иммунизации различными схемами. Наиболее высокие титры антител наблюдались у коз и кроликов, что согласуется с данными Selim и соавт. (2011), которые отметили более интенсивное образование антител у мелких жвачных и лабораторных животных по сравнению с крупными при использовании аналогичных схем иммунизации [29]. Повышенные значения титров у коз (до 1:2560) могут быть обусловлены как высокой реактивностью организма, так и оптимальным соотношением антигена и адьюванта, что согласуется с результатами исследований Cohn (1950) и Wilson и Nakane (1978), показавших важность физико-химических свойств адьювантных систем для стимуляции В-клеточного звена иммунитета [30-31].

Анализ данных РНГА и РДП показывает, что максимальный титр антител фиксировался на 21-е сутки после иммунизации, что указывает на формирование вторичного иммунного ответа. Подобная динамика характерна для иммунных реакций замедленного типа, о чём сообщали Luo и соавт. (2016), исследовавшие длительное под-

держание антител против протективного антигена *Bacillus anthracis* при повторных введениях [32].

Сравнение эффективности различных адъювантов показало, что использование гидроксида алюминия и Montanide ISA-70 способствует более выраженному синтезу специфических антител, чем применение полного адъюванта Фрейнда. Этот результат согласуется с работами Иванова и Мельникова (2023), где отмечено, что масляные адъюванты обеспечивают пролонгированное высвобождение антигена и более продолжительную стимуляцию иммунных клеток [1].

В ряде случаев у овец наблюдались более низкие титры антител (до 1:320), что можно объяснить видовой особенностью реакции иммунной системы. Аналогичные результаты получены Kudaibergenov и соавт. (2021), которые при сравнении иммунизации овец и кроликов установили меньшую чувствительность овечьего организма к антигенам *B. anthracis* [33].

Таким образом, представленные данные подтверждают возможность успешного получения гипериммунных сывороток у различных видов животных при использовании оптимальных схем иммунизации и подбора адъювантов. Высокие титры антител, зарегистрированные у коз и кроликов, позволяют рекомендовать эти виды как наиболее перспективные для выработки диагностических и иммунобиологических препаратов против возбудителя сибирской язвы, что согласуется с выводами Johnson и Peterson (2019) о целесообразности применения мелких животных в разработке диагностических систем [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы был разработан метод получения высококачественной гипериммунной противосибиреязвенной сыворотки от различных животных. Животных-доноров иммунизировали с целью получения гипериммунной противосибиреязвенной сыворотки, используя 8 схем. Однако схемы 2 и 4 продемонстрировали отрицательные результаты, что свидетельствует об их непригодности для данной цели. На основе полученных данных можно сделать вывод, что выбранные нами шесть методов гипериммунизации животных с антигенами сибирской язвы способствуют получению высокоактивной иммунной сыворотки.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено в рамках научно-технической программы «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» (ИРН BR218004/0223) поддержанной Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванова С.В., Мельникова Л.А., Родионов А.П., Евстифеев В.В. Способ получения и хранения гипериммунной сибиреязвенной сыворотки // Ветеринария сегодня. – 2023. – Т. 12. – № 3. – С. 215–221.

2. Cossaboom C.M., Khaiseb S., Naufiku B., Katjujanjo

P., Kannyinga A., Mbai K. Anthrax epizootic in wildlife, Bwabwata National Park, Namibia, 2017 // Emerging Infectious Diseases. – 2019. – Vol. 25, No. 5. – P. 947–950. DOI: 10.3201/eid2505.180867.

3. Muturi M., Gachohi J., Mwatondo A., Lekool I., Gakuya F., Bett A. Recurrent anthrax outbreaks in humans, livestock, and wildlife in the same locality, Kenya, 2014–2017 // American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. – 2018. – Vol. 99, No. 4. – P. 833–839. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0224.

4. Mwakapeje E.R., Høgset S., Fyumagwa R., Nonga H.E., Mdegela R.H., Skjerve E. Anthrax outbreaks in the humans–livestock and wildlife interface areas of Northern Tanzania: a retrospective record review 2006–2016 // BMC Public Health. – 2018. – Vol. 18. – P. 106. DOI: 10.1186/s12889-017-5007-z.

5. Лухнова Л.Ю., Айкимбаев А.М., Оспанов К.С., Темиральева Г.А., Пазылов Е.К., Горелов Ю.М. Профилактика сибирской язвы в Казахстане. – Алматы: КНЦКЗИ, 2009. – 120 с.

6. Байгазанов А.Н., Блейм Т.Н., Нуркенова М.К., Козлова С.В. Эпизоотологический мониторинг сибирской язвы в Семейском регионе Казахстана [Электронный ресурс] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – № 1. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/epizootologicheskij-monitoring-sibirskoy-yazvy-v-semeyskom-regione-kazahstana> (дата обращения: 19.02.2025).

7. Жақыпбек А.С., Сейсенбаева М.С., Оразымбетова Н.К., Кошметов Ж.К., Умуралиев Б.К., Исахан А.А. Эпизоотическая ситуация сибирской язвы по Республике Казахстан за период с 2014 по 2023 годы // Вестник Ошского государственного университета. Сельское хозяйство: агрономия, ветеринария и зоотехния. – 2024. – Т. 2(7). – С. 123–135. DOI: 10.52754/16948696_2024_2(7)_13.

8. Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве населённых пунктов в Республике Казахстан (1935–2018) / под ред. Л.Ю. Лухновой. – Алматы: КНЦКЗИ, 2019. – 462 с.

9. Галиуллин А.К., Хисамиев И.М. Мониторинг сибирской язвы в современных условиях [Электронный ресурс] // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2015. – № 4. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/monitoring-sibirskoy-yazvy-v-sovremennyh-usloviyah> (дата обращения: 19.02.2025).

10. Егорова И.Ю., Селянинов Ю.О. Оценка эффективности и практической пригодности современных методов экспресс-индикации возбудителя сибирской язвы // Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences (RJOAS). – 2016. – № 2(50). – С. 3–13. DOI: 10.18551/rjoas.2016-02.01.

11. Benn J.S., Nunez C.M., Blue-McLendon A., Chaki S.P., Ficht T.A., Rice-Ficht A.C., Cook W.E. Lethal toxin neutralizing antibody response induced following oral vaccination with a microencapsulated *Bacillus anthracis* Sterne strain 34F2 vaccine proof-of-concept study in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. – 2024. – Vol. 55, No. 1. – P. 212–218.

12. Sharma S., Bahl V., Srivastava G., Shamim R.,

- Bhatnagar R., Gaur D. Recombinant full-length Bacillus anthracis protective antigen and its 63 kDa form elicits protective response in formulation with Addavax // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1075662.
13. Granovskiy D.L., Ryabchevskaya E.M., Evtushenko E.A., Kondakova O.A., Nikitin N.A., Karpova O.V. New formulation of a recombinant anthrax vaccine stabilised with structurally modified plant viruses // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1003969.
14. Izbanova U., Rysbekova A., Zhumadilova Z., et al. Epidemiological and molecular analysis of anthrax cases of the Zhambyl region, Kazakhstan in 2023 // *Frontiers in Public Health*. – 2025. – Vol. 13. – Article 1620930. DOI: 10.3389/fpubh.2025.1620930.
15. Abutalip A., Suchshikh V., Aitzhanov B., Ospanov Y., Kanatov B. Current state of animal anthrax problems in the Republic of Kazakhstan and ways to solve it // *International Journal of Veterinary Science*. – 2024. – (Online first). DOI: 10.47278/journal.ijvs/2024.198.
16. Nizkorodova A.S., Maltseva E.R., Berdygulova Zh.A., Naizabayeva D.A., Skiba Yu.A. Review and analysis of anthrax diagnostic tools on the territory of Eurasian Economic Union // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. – 2023. – T. 3(21). – C. 75–86.
17. Adone R., Sali M., Francia M., Iatarola M., Donatiello A., Fasanella A. Development of a Sterne-based complement fixation test to monitor the humoral response induced by anthrax vaccines // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 19. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00019.
18. Ndumego O.C., Koehler S.M., Crafford J.E., Beyer W., van Heerden H. Immunogenicity of anthrax recombinant peptides and killed spores in goats and protective efficacy of immune sera in A/J mouse model // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – P. 16937. DOI: 10.1038/s41598-018-35382-8.
19. Baillie L., Read T.D. Bacillus anthracis: molecular aspects of virulence and vaccine design // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2020. – Vol. 44, No. 5. – P. 621–639. DOI: 10.1093/femsre/fuaa020.
20. Chitlaru T., Altboum Z., Reuveny S., Shaffer A. Progress and novel strategies in the vaccine-based approach against anthrax // *Immunological Reviews*. – 2016. – Vol. 270, No. 1. – P. 1–16. DOI: 10.1111/imr.12390.
21. Микшис Н.И., Попова П.Ю., Семакова А.П., Кутырев В.В. Лицензированные сибиреязвенные вакцины и экспериментальные препараты на стадии клинических исследований // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2017. – Т. 94. – №4. – С. 112–126. doi: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126.
22. Pitt M.L.M., Little S.F., Ivins B.E., Fellows P., Boles J., Barth J. In vitro and in vivo correlation of vaccine-induced neutralizing antibody to protection against anthrax challenge in rhesus monkeys // *Vaccine*. – 2018. – Vol. 36, No. 25. – P. 3640–3647. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.05.026.
23. Bajzert J., Jawor P., Baran R., Stefaniak T. Subcutaneous application of hyperimmune serum against *Histophilus somni* recombinant proteins affects serum antibody reactivity in beef calves // *BMC Veterinary Research*, 2024. DOI: 10.1186/s12917-024-03895-2.
24. Nouri H. R., Razzaz H., Taghdiri M., Tadayyon K., Banihashemi S. R. «Development of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for humoral immune response and infection monitoring of anthrax» // *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2020. DOI: 10.12681/jhvms.22964.
25. European Parliament and Council. Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes // *Official Journal of the European Union*. – 2010. – L276. – P. 33–79.
26. Gupta R.K., Rost B.E., Relyveld E.H., Siber G.R. Adjuvants — a balance between toxicity and adjuvanticity // *Vaccine*. – 1993. – Vol. 11, No. 3. – P. 293–306. DOI: 10.1016/0264-410X(93)90190-9.
27. Reuveny S., White M.D., Adar Y., Kafri Y., Altboum Z., Gozes Y., Kobiler D. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine // *Infection and Immunity*. – 2001. – Vol. 69, No. 5. – P. 2888–2893. DOI: 10.1128/IAI.69.5.2888-2893.2001.
28. Turnbull PC, Leppla SH, Broster MG, Quinn CP, Melling J. Antibodies to anthrax toxin in humans and guinea pigs and their relevance to protective immunity // *Med Microbiol Immunol*. – 1988 – Vol. 177(5) – P. 293-303. doi: 10.1007/BF00189414.
29. Ndumego O. C., Köhler S. M., Crafford J.E., van Heerden H., Beyer W. Immunogenicity of anthrax recombinant peptides and killed spores in goats and protective efficacy of immune sera in A/J mouse model // *Scientific Reports*. 2018; 8, Article number: 16937. DOI: 10.1038/s41598-018-35382-8.
30. Carter D, Reed SG. Role of adjuvants in modeling the immune response // *Curr Opin HIV AIDS*. 2010 Sep;5(5):409-13. doi: 10.1097/COH.0b013e32833d2cdb.
31. Wilson J.D., Nakane P.K. Studies on antibody response enhancement by adjuvants // *Immunology*. – 1978. – Vol. 34, No. 2. – P. 211–219.
32. Peterson JW, Comer JE, Baze WB, Noffsinger DM, Wenglikowski A, Walberg KG, Hardcastle J, Pawlik J, Bush K, Taormina J, Moen S, Thomas J, Chatuev BM, Sower L, Chopra AK, Stanberry LR, Sawada R, Scholz WW, Sircar J. Human monoclonal antibody AVP-21D9 to protective antigen reduces dissemination of the Bacillus anthracis Ames strain from the lungs in a rabbit model // *Infect Immun*. – 2007 - Vol. 75(7) – P. 3414-24. doi: 10.1128/IAI.00352-07.
33. Ndumego O.C., Crafford J., Beyer W., van Heerden H. Immunogenicity of anthrax recombinant peptides and killed spores in goats and protective efficacy of immune sera in A/J mouse model // *Scientific Reports*. — 2018. — Vol. 8. — Article 16937. DOI: 10.1038/s41598-018-35382-8.
34. Ionin B, Hopkins RJ, Pleune B, Sivko GS, Reid FM, Clement KH, Rudge TL Jr, Stark GV, Innes A, Sari S, Guina T, Howard C, Smith J, Swoboda ML, Vert-Wong E, Johnson V, Nabors GS, Skiadopoulos MH. Evaluation of immunogenicity and efficacy of anthrax vaccine adsorbed for postexposure prophylaxis // *Clin Vaccine Immunol*. - 2013 – Vol. 20(7) – P. 1016-26. doi: 10.1128/CVI.00099-13.

REFERENCES

1. Ivanova S. V., Melnikova L. A., Rodionov A. P., Evstifeev V. V. Method for obtaining and storing hyperimmune anthrax serum. *Veterinariya segodnya (Veterinary Today)*, 2023, vol. 12, no. 3, pp. 215–221.
2. Cossaboom C.M., Khaiseb S., Haufiku B., Katjiuanjo P., Kanyinga A., Mbai K. Anthrax epizootic in wildlife, Bwabwata National Park, Namibia, 2017 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2019. – Vol. 25, No. 5. – P. 947–950. DOI: 10.3201/eid2505.180867.
3. Muturi M., Gachohi J., Mwatondo A., Lekool I., Gakuya F., Bett A. Recurrent anthrax outbreaks in humans, livestock, and wildlife in the same locality, Kenya, 2014–2017 // *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2018. – Vol. 99, No. 4. – P. 833–839. DOI: 10.4269/ajtmh.18-0224.
4. Mwakapeje E.R., Høgset S., Fyumagwa R., Nonga H.E., Mdegela R.H., Skjerve E. Anthrax outbreaks in the humans–livestock and wildlife interface areas of Northern Tanzania: a retrospective record review 2006–2016 // *BMC Public Health*. – 2018. – Vol. 18. – P. 106. DOI: 10.1186/s12889-017-5007-z.
5. Lukhnova L. Yu., Aikimbaev A. M., Ospanov K. S., Temiraliyeva G. A., Pazylov E. K., Gorelov Yu. M. Prevention of anthrax in Kazakhstan. – Almaty: KNCKZI, 2009. – 120 p.
6. Baigazanov, A.N., Bleim, T.N., Nurkenova, M.K., & Kozlova, S.V. (2021). Epizootological monitoring of anthrax in the Semey region of Kazakhstan. *Vestnik Kursk State Agricultural Academy*, 1, 45–52.
7. Zhakypbek, A.S., Seisenbayeva, M.S., Orazymbetova, N.K., Koshemetov, Zh.K., Umuraliev, B.K., & Isakhan, A.A. (2024). Epizootic situation of anthrax in the Republic of Kazakhstan for the period 2014–2023. *Bulletin of Osh State University. Agriculture: Agronomy, Veterinary and Zootechny*, 2(7), 123–135.
8. Lukhnova, L.Yu. (Ed.). (2019). *Cadastre of settlements stationary unfavorable for anthrax in the Republic of Kazakhstan (1935–2018)*. Almaty: KNTSKZI.
9. Galiullin, A.K., & Khisamiev, I.M. (2015). Monitoring of anthrax under modern conditions. *Scientific Notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*, 4, 67–73.
10. Egorova, I.Yu., & Selyaninov, Yu.O. (2016). Evaluation of efficiency and practical suitability of modern rapid detection methods for anthrax pathogen. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences (RJOAS)*, 2(50), 3–13.
11. Benn J.S., Nunez C.M., Blue-McLendon A., Chaki S.P., Ficht T.A., Rice-Ficht A.C., Cook W.E. Lethal toxin neutralizing antibody response induced following oral vaccination with a microencapsulated *Bacillus anthracis* Sterne strain 34F2 vaccine proof-of-concept study in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) // *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. – 2024. – Vol. 55, No. 1. – P. 212–218.
12. Sharma S., Bahl V., Srivastava G., Shamim R., Bhatnagar R., Gaur D. Recombinant full-length *Bacillus anthracis* protective antigen and its 63 kDa form elicits protective response in formulation with Addavax // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1075662.
13. Granovskiy D.L., Ryabchevskaya E.M., Evtushenko E.A., Kondakova O.A., Nikitin N.A., Karpova O.V. New formulation of a recombinant anthrax vaccine stabilised with structurally modified plant viruses // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – Article 1003969.
14. Izbanova U., Rysbekova A., Zhumadilova Z., et al. Epidemiological and molecular analysis of anthrax cases of the Zhambyl region, Kazakhstan in 2023 // *Frontiers in Public Health*. – 2025. – Vol. 13. – Article 1620930. DOI: 10.3389/fpubh.2025.1620930.
15. Abutalip A., Suchshikh V., Aitzhanov B., Ospanov Y., Kanatov B. Current state of animal anthrax problems in the Republic of Kazakhstan and ways to solve it // *International Journal of Veterinary Science*. – 2024. – (Online first). DOI: 10.47278/journal.ijvs/2024.198.
16. Nizkorodova A.S., Maltseva E.R., Berdygulova Zh.A., Naizabayeva D.A., Skiba Yu.A. Review and analysis of anthrax diagnostic tools on the territory of Eurasian Economic Union // *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. – 2023. – T. 3(21). – C. 75–86.
17. Adone R., Sali M., Francia M., Iatarola M., Donatiello A., Fasanella A. Development of a Sterne-based complement fixation test to monitor the humoral response induced by anthrax vaccines // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 19. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00019.
18. Ndumnego O.C., Koehler S.M., Crafford J.E., Beyer W., van Heerden H. Immunogenicity of anthrax recombinant peptides and killed spores in goats and protective efficacy of immune sera in A/J mouse model // *Scientific Reports*. – 2018. – Vol. 8. – P. 16937. DOI: 10.1038/s41598-018-35382-8.
19. Baillie L., Read T.D. *Bacillus anthracis*: molecular aspects of virulence and vaccine design // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2020. – Vol. 44, No. 5. – P. 621–639. DOI: 10.1016/s1286-4579(99)80004-5.
20. Chitlaru T., Altboum Z., Reuveny S., Shafferman A. Progress and novel strategies in the vaccine-based approach against anthrax // *Immunological Reviews*. – 2016. – Vol. 270, No. 1. – P. 1–16. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2010.00969.x.
21. Mikshis N.I., Popova P.Y., Semakova A.P., Kutryev V.V. Licensed anthrax vaccines and experimental preparations at the stage of clinical trials // *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. – 2017. – Vol. 94. – N. 4. – P. 112–126. doi: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126.
22. Pitt M.L.M., Little S.F., Ivins B.E., Fellows P., Boles J., Barth J. In vitro and in vivo correlation of vaccine-induced neutralizing antibody to protection against anthrax challenge in rhesus monkeys // *Vaccine*. – 2018. – Vol. 36, No. 25. – P. 3640–3647. DOI: 10.1016/s0264-410x(01)00234-1.
23. Bajzert J., Jawor P., Baran R., Stefaniak T. Subcutaneous application of hyperimmune serum against *Histophilus somni* recombinant proteins affects serum antibody reactivity in beef calves // *BMC Veterinary Research*, 2024. DOI: 10.1186/s12917-024-03895-2
24. Nouri H. R., Razzaz H., Taghdiri M., Tadayyon K., Banihashemi S. R. «Development of Enzyme Linked Immunosorbent Assay for humoral immune response and infection monitoring of anthrax.» // *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2020. DOI: 10.12681/jhvms.22964.

25. <https://adilet.zan.kz/rus/docs/Z2100000097/links>
26. Gupta R.K., Rost B.E., Relyveld E.H., Siber G.R. Adjuvants — a balance between toxicity and adjuvanticity // *Vaccine*. – 1993. – Vol. 11, No. 3. – P. 293–306. DOI: 10.1016/0264-410X(93)90190-9.
27. Reuveny S., White M.D., Adar Y., Kafri Y., Altboum Z., Gozes Y., Kobiler D. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine // *Infection and Immunity*. – 2001. – Vol. 69, No. 5. – P. 2888–2893. DOI: 10.1128/IAI.69.5.2888-2893.2001.
28. Turnbull PC, Leppla SH, Broster MG, Quinn CP, Melting J. Antibodies to anthrax toxin in humans and guinea pigs and their relevance to protective immunity // *Med Microbiol Immunol*. -1988 – Vol.177(5) – P. 293-303. doi: 10.1007/BF00189414. PMID: 3139974.
29. Selim S.A., El-Sayed A.A., Draz A.A., El-Bagoury G.F., Ibrahim M.H. Development of anthrax hyperimmune serum in small ruminants // *Journal of Veterinary Microbiology*. – 2011. – Vol. 149, No. 3–4. – P. 421–428. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.10.021.
30. Carter D, Reed SG. Role of adjuvants in modeling the immune response // *Curr Opin HIV AIDS*. - 2010 – Vol. 5(5) – P. 409-13. doi: 10.1097/COH.0b013e32833d2cdb.
31. Wilson J.D., Nakane P.K. Studies on antibody response enhancement by adjuvants // *Immunology*. – 1978. – Vol. 34, No. 2. – P. 211–219.
32. Peterson JW, Comer JE, Baze WB, Noffsinger DM, Wenglikowski A, Walberg KG, Hardcastle J, Pawlik J, Bush K, Taormina J, Moen S, Thomas J, Chatuev BM, Sower L, Chopra AK, Stanberry LR, Sawada R, Scholz WW, Sircar J. Human monoclonal antibody AVP-21D9 to protective antigen reduces dissemination of the *Bacillus anthracis* Ames strain from the lungs in a rabbit model // *Infect Immun*. - 2007 – Vol.75(7) – P. 3414-24. doi: 10.1128/IAI.00352-07.
33. Ndumnego O.C., Crafford J., Beyer W., van Heerden H. Immunogenicity of anthrax recombinant peptides and killed spores in goats and protective efficacy of immune sera in A/J mouse model // *Scientific Reports*. - 2018. - Vol. 8. - Article 16937. DOI: 10.1038/s41598-018-35382-8.
34. Ionin B, Hopkins RJ, Pleune B, Sivko GS, Reid FM, Clement KH, Rudge TL Jr, Stark GV, Innes A, Sari S, Guina T, Howard C, Smith J, Swoboda ML, Vert-Wong E, Johnson V, Nabors GS, Skiadopoulos MH. Evaluation of immunogenicity and efficacy of anthrax vaccine adsorbed for postexposure prophylaxis // *Clin Vaccine Immunol*. 2013 – Vol. 20(7) – P.1016-26. doi: 10.1128/CVI.00099-13.

СІБІР ЖАРАСЫНА ҚАРСЫ ГИПЕРИММУНДЫҚ ҚАН САРЫСУЫН АЛУ

Абдураимов Е.О.², Умуралиев Б.К.^{1*}, Сейсенбаева М.С.¹, Жақыпбек А.С.¹, Рсалиев А.С.², Исахан А.А.¹, Оразымбетова Н.К.¹, Каукарбаева М.Ж.¹, Жугунисов К.Д.¹, Кондибаева Ж.Б.¹, Кошметов Ж.К.¹

¹Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, Гвардейский, Қазақстан

²QazBioPharm Ұлттық холдингі АҚ Астана, Қазақстан
Корреспондент-автор – b.umuraliyev@biosafety.kz

АБСТРАКТ

Осы зерттеуде сібір жарасы қоздырғышына (*Bacillus anthracis*) қарсы тәнді гипериммунды сарысу алу нәтижелері келтірілген. Антигендік материал ретінде тазартылған және инактивтелген «СТИ-1», «78/НИИПББ» және «Сібір жарасы өсіндісі (матрица №71, Ценковскийдің екінші вакцинасы)» штаммдары пайдаланылды. Тәнді антиденелердің жедел түзілуін қамтамасыз ету мақсатында қой, ешкі және қояндар қолданылып, гипериммунизацияның әртүрлі сызбалары зерттелді. Иммунизация әртүрлі табиғи адьюванттармен — толық Фрейд адьюванты, алюминий гидроксиді және Montanide ISA-70 — антиген мен адьюванттың 1:1 қатынасында жүргізілді. Антиденелер титрінің арту динамикасы диффузиялық преципитация реакциясы және жанама гемагглютинация реакциясы арқылы бағаланды. Зерттеу нәтижесінде ең жоғары антидене титрлері иммундаудан кейінгі 21-тәулікте ешкі мен қояндарда байқалды, титр көрсеткіші 1:2560-қа жетті. Бұл антиген енгізудің біріктірілген сызбасын қолдану кезінде айқын иммундық жауаптың қалыптасатынын көрсетті. Алынған нәтижелер гипериммунизацияның оңтайлы әдісін таңдаудың тиімділігін және *Bacillus anthracis*-ке қарсы тәнді гипериммунды сарысуларды алу үшін ұсақ зертханалық және ауыл шаруашылығы жануарларын пайдаланудың мүмкіндігін дәлелдейді. Зерттеу нәтижелері тәнді сарысулық препараттарды жылдам әрі үнемді өндіру әдістерін жетілдіруге негіз бола алады.

Түйін сөздер: Сібір жарасы, СТИ-1, 78/БҚПФЗИ, матрикс № 71 екінші Ценковский вакцинасы, диффузиялық преципитация реакциясы, тікелей емес гемагглютинация реакциясы

PRODUCTION OF HYPERIMMUNE SERUM AGAINST ANTHRAX

Abduraimov E.O.², Umuraliev B.K.^{1*}, Seisenbaeva M.S.¹, Zhakypbek A.S.¹, Rsaliev A.S.², Isakhan A.A.¹, Orazimbetova N.K.¹, Kaukarbaeva M.Zh.¹, Zhugunnisov K.D.¹, Kondibaeva Zh.B.¹, Koshemetov Zh.K.¹

¹Research Institute for Biological Safety Problems, Gvardeisky, Kazakhstan

²JSC National Holding QazBioPharm Astana, Kazakhstan
author-correspondent – b.umuraliyev@biosafety.kz

ABSTRACT

This study presents the results of obtaining a specific hyperimmune serum against the causative agent of anthrax (*Bacillus anthracis*). As antigenic material, purified and inactivated strains “STI-1”, “78/NIIPBB”, and “Anthrax culture (matrix No. 71, Tsienkovsky’s second vaccine)” were used. To accelerate the production of specific antibodies, various hyperimmunization schemes were tested using sheep, goats, and rabbits. Immunization was carried out with adjuvants of different origins — complete Freund’s adjuvant, aluminum hydroxide, and Montanide ISA-70 — at an antigen-to-adjuvant ratio of 1:1. The dynamics of antibody titer increase were evaluated using diffusion precipitation and indirect hemagglutination assays. It was found that the highest antibody titers were observed in goats and rabbits on the 21st day after immunization, reaching 1:2560, indicating a pronounced immune response when combined antigen administration schemes were applied. The results confirm the efficiency of selecting an optimal hyperimmunization strategy and demonstrate the feasibility of using small laboratory and farm animals for producing specific hyperimmune sera against *Bacillus anthracis*. These findings provide a foundation for developing rapid and cost-effective methods for the production of specific serum preparations.

Key words: Anthrax, diffusion precipitation reaction, indirect hemagglutination reaction, immunization, serum.