DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-3-2
УДК 619:579.841.93

Роль антител в противобруцеллезном иммунитете

Винокуров Н.В.
Vinokurov N.V.

Винокуров Н.В.¹, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

Слепцов Е.С.¹, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

Искандаров М.И.², доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник

Сидоров М.Н.³, кандидат ветеринарных наук, доцент

Томашевская Е.П.³, кандидат биологических наук, доцент

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр "Якутский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова", г. Якутск, e-mail: nikolaivin@mail.ru

²ФГБНУ "Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.П. Коваленко", г. Москва, e-mail: m-iskandarov@mail.ru

³ФГБОУ Высшего образования "Якутская государственная сельскохозяйственная академия", г. Якутск, e-mail: tomsid@list.ru

Ключевые слова: бруцеллез, бруцеллы, вакцина, штамм, антитела, иммуногенность, иммунитет, лимфоциты.

Резюме. Представлены материалы по изучению бактерицидной активности различных фракций крови (сыворотки, плазмы, различных клеточных популяций полиморфноядерных и мононуклеарных лимфоцитов) от иммунных и интактных животных в отношении бруцелл. Для проведения исследований кровь от иммунных и интактных животных разделяли на составные фракции методом градиентного центрифугирования. После иммунизации взрослых телок вакциной из штамма *Brucella abortus* 19. В пробирки с разными фракциями крови от иммунных и интактных животных вводили суспензию бруцелл из вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 до конечной концентрации 1 млрд м.к. Концентрацию бруцелл в бакмассе определяли по оптическому стандарту мутности. Антитела выявляемые при диагностике бруцеллеза и видимым проявлением которых является агглютинирующий и комплементсвязывающий эффект, играют, скорее всего, только роль свидетеля контакта иммунной системы организма с антигеном. Положительную роль в противобруцеллезном иммунитете могут играть "преципитирующие" антитела, которые проявляют

The Role of Antibodies in Anti-Brucellosis Immunity

Vinokurov N.V., Sleptsov E.S. - Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center "Yakut Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences Yakut Research Institute of Agriculture named after M.G. Safronov"

Iskandarov M.I. Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV"

Sidorov M.N., Tomashevskaya E.P. - Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Yakut State Agricultural Academy"

Key words: brucellosis, brucella, vaccine, strain, antibodies, immunogenicity, immunity, lymphocytes.

Abstract. The article presents materials on the study of the bactericidal activity of various blood fractions (serum, plasma, various cell populations of polymorphonuclear and mononuclear lymphocytes) from immune and intact animals against brucella. For studies, blood from immune and intact animals was separated into composite fractions by gradient centrifugation. After immunization of adult heifers with a vaccine from *Brucella abortus* 19 strain. A suspension of brucella from the vaccine strain *Brucella abortus* 19 was injected to a final concentration of 1 billion m.c. in test tubes with different blood fractions from immune and intact animals. The brucella concentration in the bacterial mass was determined by the optical turbidity standard. Antibodies detected during the diagnosis of brucellosis and whose visible manifestation is the agglutinating and complement-binding effect, most likely play only the role of a witness of the contact of the body's immune system with the antigen. "Precipitating" antibodies, which exhibit an opsonizing effect and can block epitopes that act as a "pathogenicity factor" in essence, "protective antigens", can play a positive role in anti-brucellosis immunity. Considering the prevailing role of the cellular immunity in brucellosis, assessing the effectiveness of some vaccines only for agglutinogenicity is not justified and does not reflect the true state of things. Agglutinating and complement binding antibodies that detected in the diagnosis of brucellosis are not significant in anti-brucellosis immunity and play a role, mainly a "witness" of the contact of the body's immune system with the pathogenic principle. Immunity in brucellosis is predominantly cellular, but some "precipitin" antibodies, exhibiting the phenomenon of opsonization and blocking the pathogenicity factor, play a positive role in anti-brucellosis immunity. A reliable assessment of the immunogenicity of agglutinogenic and weakly agglutinogenic vaccines against brucellosis is possible only using the direct infection method. The conclusion is made about the cellular nature of the immunity in brucellosis, however, some "precipitin" antibodies play a positive role in anti-brucellosis immunity.

Для цитирования / For citation

Роль антител в противобруцеллезном иммунитете / Н.В. Винокуров [и др.] // Ветеринария и кормление. - 2020. - №3. - С.8-11
The Role of Antibodies in Anti-Brucellosis Immunity / N.V. Vinokurov [et. al.] // Veterinaria i kormlenie. - 2020. - №3. - С.8-11

опсонизирующий эффект и могут блокировать эпитопы, выполняющие роль "фактора патогенности" в сущности "протективные антигены". Учитывая превалирующую роль клеточного звена иммунитета при бруцеллезе, оценка эффективности некоторых вакцин только по агглютиногенности не оправдано и не отражает истинного положения вещей. Агглютинирующие и комплемент связывающие антитела, выявляемые при диагностике бруцеллеза, не имеют существенного значения в противобруцеллезном иммунитете и играют роль, преимущественно "свидетеля" контакта иммунной системы организма с патогенным началом. Иммунитет при бруцеллезе преимущественно клеточного типа, но некоторые антитела "преципитины", проявляя феномен опсонизации и блокирования фактора патогенности, играют положительную роль в противобруцеллезном иммунитете. Достоверная оценка иммуногенности агглютиногенных и слабоагглютиногенных вакцин против бруцеллеза возможна только при использовании метода прямого заражения. Делается вывод о клеточном характере иммунитета при бруцеллезе, однако некоторые антитела "преципитины" играют положительную роль в противобруцеллезном иммунитете.

В последние годы иммунология сделала значительные успехи в области изучения морфологии и функции различных субпопуляций лимфоцитов и механизмов их кооперации. Как следствие этих процессов, предельный титр специфических антител или количество антителообразующих клеток порой рассматривают как основной количественный показатель иммунного состояния организма, что, однако не всегда совпадает с результатами экспериментального заражения.

В целом ряде наших экспериментов, посвященных изучению иммунитета при бруцеллезе, мы наблюдали явное отсутствие корреляции между титром антител, выявляемых в РА и РСК со стандартными диагностикумами и состоянием иммунитета у морских свинок, которое проверяли методом экспериментального заражения. Эти данные согласуются с работами многих исследователей. Начиная с сороковых годов прошлого столетия, стали появляться сообщения о том, что высокий титр антител не гарантирует животных от экспериментального заражения [2-5].

Вызывают сомнения о сколь-либо существенной роли антител в бруцеллезной инфекции и такой факт, что в ветеринарии и медицине широко и с успехом используются лечебные сыворотки против многих бактериальных и вирусных инфекций. Против бруцеллеза такой сыворотки нет. Хотя в 50–60-тых годах прошлого столетия многие авторы пытались разработать ее и даже получали некоторые положительные результаты. Так и мы, в своих исследованиях на морских свинках, вводили подопытным животным сразу после заражения и затем еще три раза с интервалом 5–6 дней, антибруцеллезную сыворотку, полученную гипериммунизацией кроликов бруцеллезной вакциной. Бактериологическое исследование через месяц после заражения и лечения антибруцеллезной сывороткой выявило 63% подопытных животных, свободных от бруцеллезной инфекции при 100% - ном заражении контрольных животных. Анализируя материалы разработок в этом направлении можно отметить, что в условиях "in vivo" проявлялось превентивное свойство иммунной антибруцеллезной сыворотки, но только при условии предварительного или одновременного ее введения с заражающей культурой. В период развившейся инфекции сыворотка превентивными свойствами не обладала. По-видимому, учитывая внутриклеточный характер паразитирования бруцелл, мембрана клеток создавала надежный барьер для гуморальных бактерицидных факторов крови.

Защита организма против бруцеллезной инфекции обусловлена клеточным иммунитетом: после фагоцитоза бру-

целл, макрофаги передают информацию Т- лимфоцитам, ответственным за клеточный иммунитет. В этом процессе некоторые антитела – такие как преципитины или бактерицидные антитела играют полезную роль. Напротив, агглютинирующие антитела (или агглютинины) оказываются пассивными свидетелями контактов организма с бруцеллами. Вместе с тем автор отмечает, что вакцина из мутированного штамма бруцелл, находящегося в R- форме (типа *Brucella abortus* 45/20) индуцирует исключительно клеточную защиту. В этом случае получается неагглютиногенная вакцина – типа Abortox.

Таким образом, вроде бы убедительно доказано, что антителогенез при вакцинации против бруцеллеза не коррелирует с развитием иммунитета. Об этом свидетельствует, хотя бы, вновь наметившаяся в последнее время тенденция к разработке слабоагглютиногенных и неагглютиногенных вакцин. Вопрос о клеточном типе иммунитета при бруцеллезной инфекции вроде бы не вызывает сомнений. При экспериментах с вакциной *Brucella abortus* RB51 о клеточном характере иммунитета индуцируемого их вакциной [2]. Эта вакцина применяется на КРС в возрасте от 4 до 11 мес. в дозе $1-3 \times 10^{10}$, а в возрасте свыше 11 мес. в дозе $1-3 \times 10^9$. Авторы в экспериментах на 3250 голов КРС в разные сроки после прививки не обнаружили антител по стандартным методикам, и не обнаружили бруцелл вакцинного штамма в молоке и на этом основании делают вывод, что эта вакцина стимулирует клеточный тип иммунитета. Однако в последнее время вновь появляются сообщения о положительной роли гуморального звена иммунитета при бруцеллезной инфекции. В проведенных опытах на мышах дефицитных по В-клеткам доказывают, что антитела играют лимитирующую роль при инфекциях с внутриклеточным паразитированием, в частности при бруцеллезе [4-5].

Осмысление этого вопроса имеет большое практическое значение. На современном этапе при конструировании убитых вакцин как корпускулярных, так и из их фрагментов, в том числе из очищенных протективных антигенов, выбор адьюванта имеет немаловажное значение. На сегодняшний день разработано значительное количество иммуностимулирующих препаратов, и правильная их подборка позволяет целенаправленно стимулировать иммунитет или гуморального или клеточного типа.

В данной статье приведены материалы по изучению бруцеллоцидных свойств различных компонентов крови (лимфоцитов, нейтрофилов, плазмы и сыворотки) от иммунных и интактных животных. Надеемся, что результаты этих исследований внесут определенную лепту в изучение вопроса о роли антител в бруцеллезной инфекции.

Для проведения исследований кровь от иммунных и интактных животных разделяли на составные фракции методом градиентного центрифугирования. На момент проведения исследований прошло 1,5 месяца после иммунизации взрослых телок вакциной из штамма *Brucella abortus* 19.

Кровь у телок брали в стерильные пробирки с гепарином (25–50 ЕД/мл). В качестве градиента плотности использовали растворы фикола и верографина. Кровь, разведенную 1:3 раствором Хенкса наслаивали на градиент плотности и центрифугировали в горизонтальном роторе при 400 g 30 минут. После окончания центрифугирования в центрифужной пробирке образовывалось три слоя: верхний – плазма крови; средний – градиент плотности и нижний – эритроциты крови. На границе плазмы крови и градиента плотности аккуратно стерильной пастеровской пипеткой отсасывали слой лимфоцитов (в виде легкого беловатого облачка) и переносили в другую пробирку. Слой полиморфноядерных лейкоцитов (в виде беловатой пленки) отбирали на границе эритроцитов крови и градиента плотности и также переносили в другую пробирку. Выделенные клетки крови трижды отмывали раствором Хенкса путем центрифугирования по 10 мин при 400 g и ресуспендирова-

ли в растворе Хенкса. Вся работа по выделению различных популяций клеток крови, а также сыворотки и плазмы крови выполнялась в условиях строгой стерильности. Сыворотку крови и плазму использовали как в нативном, так и в гретом виде. Прогревание плазмы и сыворотки осуществляли при 60°C в течение полчаса для ингибирования термоллабильных бактерицидных факторов крови (лизозим, система комплемента, иммуноглобулины М- класса).

В пробирки с разными фракциями крови от иммунных и интактных животных вводили суспензию бруцелл из вакцинного штамма *Brucella abortus* 19 до конечной концентрации 1 млрд м.к. Концентрацию бруцелл в бакмассе определяли по оптическому стандарту мутности. Необходимую концентрацию микробных клеток получали путем серийных разведений бактериальной массы в стерильном физиологическом растворе. Для контроля концентрации бруцелл из последнего и предпоследнего разведения культуры делали высевы на мясо-пептонном глюкозо-глицериновом агаре (МППГГА) в чашках Петри (по 5 чашек на каждую пробу) с последующим подсчетом выросших колоний.

Концентрацию микробных клеток контролировали до инкубации, сразу после введения суспензии бруцелл в различные фракции крови и, через 6–8 часов после инкубирования при 37°C.

На начальном этапе мы провели серию экспериментов, чтобы определить возможность цитолитического действия специфических иммуноглобулинов на культуру бруцелл в отсутствие клеток, обладающих киллерным эффектом, то есть определить жизнеспособность бруцелл под воздействием иммунной сыворотки. После смешивания суспензии бруцелл с иммунной сывороткой с активностью 640 МЕ смесь инкубировали при 37 °С в термостате. Эксперименты проводили с бруцеллами как из вакцинного (*Brucella abortus* 19) так и вирулентного (*Brucella abortus* 54) штамма. Через 24 часа образовавшийся агглютинат высевали на плотные питательные среды. В контрольных пробирках вместо иммунной сыворотки использовали физраствор. Через 1–3 суток во всех пробирках образовался пышный рост бруцелл (газоном) без видимой разницы в опыте и контроле. Не было отмечено также и существенных различий в росте вакцинной и вирулентных культур.

Проведенные эксперименты показали, что бруцеллы способны сохранять жизнеспособность даже в условиях агглютинации их специфическими иммуноглобулинами. Однако данная методика не позволяет точно определить степень выживаемости бруцелл. Поэтому и был проведен эксперимент с

использованием метода, предполагающего высев бруцелл на чашки Петри и подсчет выросших колоний.

В таблице приведены данные по определению бактерицидной активности различных фракций крови от интактных и иммунизированных против бруцеллеза животных.

Как видно из таблицы, наибольший бактерицидный эффект проявила популяция лимфоцитов от иммунизированных животных. Количество микробных клеток после инкубации уменьшилось более чем в половину (0,5±0,009 млрд м.к.). У интактных животных эти показатели более скромные (0,99±0,008 млрд м.к.). То есть количество бруцелл осталось практически на первоначальном уровне, хотя за такое время инкубации, при прочих благоприятных условиях, вполне могло увеличиться. Интересны показатели по сывороткам крови. В отношении бруцелл бактерицидная активность сыворотки крови от интактного животного оказалась выше (0,79±0,008 млрд м.к.), чем от иммунного (1,35±0,011 млрд м.к.). Сыворотка крови от иммунного животного не только не подавляла рост и размножение бруцелл, но даже, похоже, стимулировала. Во всяком случае, показатели бактерицидной активности иммунной сыворотки приближаются к аналогичным показателям гретой сыворотки.

Снижение ингибирующей способности положительной сыворотки по сравнению с отрицательной объясняется, по-видимому, снижением уровня лизоцима и комплемента, которое возникает в начальные сроки после иммунизации живой вакциной [6-7], что, в свою очередь, доказывает неспецифический характер ингибирующей способности иммунной сыворотки в отношении бруцелл.

С плазмами крови от интактных и иммунных животных проглядывается примерно та же картина, как и с сыворотками только менее выраженная.

Интересным на наш взгляд является тот факт, что после инактивации комплемента и других термоллабильных факторов, сыворотка (как отрицательная, так и положительная) вообще теряет способность оказывать какое либо ингибирующее действие на бруцелл, которые, возможно, размножаются в ней, используя компоненты сыворотки как питательный субстрат. Кстати, это свойство сыворотки широко используется при изготовлении питательных сред для выращивания многих микроорганизмов, в том числе бруцелл.

Бактерицидные свойства крови от иммунизированного животного (0,96±0,012) по сравнению с показателями нормальной крови (1,25±0,008), более выражены. Здесь наличие кооперация всех звеньев иммунитета. Несколько сни-

женные показатели бактерицидности иммунной крови по сравнению с аналогичными показателями популяции лимфоцитов объясняются на наш взгляд довольно просто. При введении суспензии бруцелл в изолированную популяцию лимфоцитов, возбудителя инфекции встречает мощная кооперация клеток, осуществляющих киллерный эффект и ничего более. При введении же инфицирующего начала в кровь, киллерный эффект конкурирует, и не всегда удачно, с ростовыми качествами, в избытке присутствующими в крови в виде белка, углеводов, витаминов и др. В этом отношении весьма наглядны показатели популяции полиморфноядер-

Таблица 1. Бактерицидная активность различных фракций крови от интактных и иммунизированных против бруцеллеза животных
Table 1. Bactericidal activity of various blood fractions from intact and immunized animals against brucellosis

Вид объекта			Кол-во микробных клеток (млрд.)	
			До инкубации	После инкубации
Пробы крови животных	интактных		0,99±0,005	1,25±0,008*
	вакцинированных		0,98±0,008	0,96±0,012
Сыворотка крови животных	интактных	нативная	0,99±0,012	0,79±0,008*
		гретая	1,01±0,011	1,95±0,005*
	вакцинированных	нативная	1,0±0,012	1,35±0,011*
		гретая	0,98±0,002	1,88±0,008*
Плазма крови животных	интактных	нативная	1,1±0,005	0,99±0,005
		гретая	1,0±0,012	1,75±0,008*
	вакцинированных	нативная	1,05±0,008	1,2±0,005*
		гретая	0,99±0,005	1,65±0,005*
Популяция сегментоядерных нейтрофилов от животных	интактных		1,06±0,012	3,95±0,013*
	вакцинированных		0,97±0,008	4,89±0,017*
Популяция лимфоцитов от животных	интактных		1,03±0,005	0,99±0,008
	вакцинированных		1,1±0,008	0,5±0,009*

Примечание: * - статистически достоверная разница (P<0,05).

ных лейкоцитов. Впечатление такое, как будто бруцеллы ввели в оптимально подобранный питательный субстрат. Количество бруцелл увеличилось как в нормальной ($3,95 \pm 0,013$), так и иммунной ($4,89 \pm 0,017$) популяции нейтрофилов в 4 и более раза. Хотя при микрокопировании мазков, окрашенных по Романовскому-Гимза, фагоцитоз ярко выражен, особенно в иммунной популяции нейтрофилов. Некоторые нейтрофилы настолько переполнены бруцеллами, что создается угроза разрыва мембраны. Что и происходит, по-видимому, периодически, судя по некоторым разбросанным в разных полях зрения конгломератам бруцелл и ядерного вещества полиморфноядерных лейкоцитов без клеточной оболочки. Происходит ли разрыв оболочек нейтрофилов из-за контаминации бруцеллами или в результате механического повреждения шлифованным стеклом при изготовлении мазков, вопрос открытый. Хотя мы склонны придерживаться первой бруцеллезной версии этого явления, учитывая значительный рост количества бруцелл.

В нашем эксперименте только сыворотку крови и плазму удалось использовать в достаточно чистом виде. С популяциями клеточных фракций крови положение несколько сложнее. При использовании предложенной методики по фракционированию крови нам не удалось получить абсолютно однородную популяцию клеток крови как полиморфноядерных так и мононуклеарных лейкоцитов. При микрокопировании мазков с полиморфноядерными лейкоцитами, основную массу клеток составляли сегментоядерные нейтрофилы. Встречались базофилы и эозинофилы, а при исследовании нескольких десятков полей зрения отдельные палочкоядерные нейтрофилы и даже юные. Мононуклеарную фракцию составляли, надо полагать, различные популяции Т- и В- лимфоцитов, так как используемый метод не позволял разделить их на субпопуляции. При микрокопии мазков все клетки представляли примерно однородную массу с некоторым варьированием по размерам (большие и малые лимфоциты). Нам практически не удалось обнаружить наличие моноцитов. По-видимому, учитывая свойство к адгезии, лимфоциты были утеряны при 3-х кратном отмывании методом центрифугирования.

Конечно, результаты, полученные *"in vitro"* не могут в полной мере отражать события, происходящие *"in vivo"*. Потому что в живом организме патогенный фактор сталкивается с мощной системой саморегуляции физиологических функций, которая при взаимодействии нервных, гуморальных и других компонентов регуляторного процесса в целостном организме обеспечивает гомеостаз. И все же, опираясь на результаты наших исследований и литературные источники, некоторые выводы можно сделать.

Нельзя не учитывать того, что внедрившийся возбудитель обычно имеет не одну какую-либо антигенную детерминанту, а десятки, а возможно и большее их количество.

В результате неоднородности биохимической структуры некоторые из них способны выступать в качестве сильных антигенов (например, антигены полисахаридной природы типа липополисахаридов грамотрицательных бактерий), другие же индуцируют менее значительный антигенный стимул.

Все это приводит к тому, что при многих заболеваниях, в частности при бруцеллезе, в наибольшем титре стандартными диагностикумами выявляются антитела комплементарные к структурным компонентам, которые не являются необходимыми для жизнедеятельности микроорганизма. Блокирование агглютинирующими и комплемент связывающими антителами таких антигенных макромолекул мало отражается на жизнеспособности возбудителя. Поэтому в подобных случаях говорят об отсутствии корреляции между титром специфических антител и протективным эффектом, проверяемым в остром опыте методом экспериментального заражения.

В литературе, освещающей вопросы иммунологии бруцеллеза, встречаются сообщения о том, что специфические антитела оказывают опсонизирующее действие на культуру как "иммунных", так и "неиммунных" макрофагов, в определенной степени усиливая их фагоцитирующую и бактерицидную способность в условиях *"in vitro"* [5].

На сегодняшний день известно несколько подклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) каждый из которых более выражено проявляется в какой-либо серологической реакции. По-видимому, роль антител, имеющих какое-либо существенное значение при бруцеллезной инфекции и коррелирующее с иммунитетом, по старой классификации можно отнести к "преципитинам". Именно эту разновидность антител выявляли с растворимым поли-Б антигеном в реакции радиальной иммунодиффузии (РИД) [1-3] для дифференциации больных и вакцинированных животных. Сейчас РИД с О-ПС антигеном официально утвержден в РФ.

Таким образом, антитела, выявляемые при диагностике бруцеллеза и видимым проявлением которых является агглютинирующий и комплементсвязывающий эффект, играют, скорее всего, только роль свидетеля контакта иммунной системы организма с антигеном. Положительную роль в противобруцеллезном иммунитете могут играть "преципитирующие" антитела, которые проявляют опсонизирующий эффект и могут блокировать эпитопы, выполняющие роль "фактора патогенности" в сущности "протективные антигены". Учитывая превалирующую роль клеточного звена иммунитета при бруцеллезе, оценка эффективности некоторых вакцин только по агглютиногенности не оправдано и не отражает истинного положения вещей.

Исходя из результатов исследований можно сделать следующие выводы:

1. Агглютинирующие и комплемент связывающие антитела, выявляемые при диагностике бруцеллеза, не имеют существенного значения в противобруцеллезном иммунитете и играют роль, преимущественно "свидетеля" контакта иммунной системы организма с патогенным началом.

2. Иммунитет при бруцеллезе преимущественно клеточного типа, но некоторые антитела "преципитины", проявляя феномен опсонизации и блокирования фактора патогенности, играют положительную роль в противобруцеллезном иммунитете.

3. Достоверная оценка иммуногенности агглютиногенных и слабоагглютиногенных вакцин против бруцеллеза возможна только при использовании метода прямого заражения.

Литература

1. Аскерова, С.А. Получение, характеристика и применение поли-Б антигена из бруцелл для дифференциации поствакцинальных и постинфекционных антител: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / С.А. Аскерова. - М., 1988. - 22 с.
  2. Бруцеллез животных в России: монография / М.И. Искандаров [и др.]. - Новосибирск: АНС "СибАК", 2017. - 286 с.
  3. Значение гуморального и клеточного иммунитета при бруцеллезе / А.И. Федоров [и др.] // Физиология и патология иммунной системы. - 2006. - Т. 10. - № 8. - С. 3-7.
  4. Игнатов, П.Е. Диалоги о коварном бруцеллезе / П.Е. Игнатов. - М.: ВИЭВ, 2010. - 103 с.
  5. Контроль и регуляция иммунного ответа / Р.В. Петров [и др.]. - М.: "Медицина", 1981. - 312 с.
  6. Хоч, А.А. Бруцеллез северных оленей в Якутии: монография / А.А. Хоч, Е.С. Слепцов. - Якутск: Сахаполиграфиздат, 2001. - 216 с.
- #### References
1. Askeroval S.A. Obtaining, characterization and application of poly-B antigen from *Brucella* for differentiation of post-vaccination and post-infectious antibodies / author's abstract. Diss. - 22 p.
  2. Brucellosis of animals in Russia: monograph / M.I. Iskandarov [et al.]. - Novosibirsk: AOR "Sibak", 2017. - 286 p.
  3. The Value of humoral and cellular immunity in brucellosis / A. I. Fedorov [et al.] // Physiology and pathology of the immune system. - 2006. - Vol. 10(8). - P. 3-7.
  4. Ignatov P.E. Dialogues about insidious brucellosis / P.E. Ignatov. - M.: VIEV, 2010. - 103 p.
  5. Control and regulation of the immune response / R.V. Petrov [et al.]. - M.: "Medicine", 1981. - 312 p.
  6. Khoch A.A. Brucellosis of reindeer in Yakutia / A.A. Khoch, E.S. Sleptsov. - Yakutsk: Sakhapoligrafizdat, 2001. - 216 p.