

УДК 579.871.1:8.097

Фуртат І. М., Михальський Л. О., Зубарева А. В., Ткачова Д. Л.

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ МИШЕЙ НА АНТИГЕНИ НЕПАТОГЕННИХ КОРИНЕБАКТЕРІЙ

У статті наведено результати дослідження антигенних властивостей деяких видів непатогенних коринебактерій, що характеризуються R- та S-формою колоній. Апробовано три різні схеми імунізації та отримано високоактивні імунні сироватки, специфічні до інтактних клітин *Corynebacterium terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Tun</sup>, *Corynebacterium flavescens* УКМ Ас-611<sup>Tun</sup>, *Corynebacterium ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Tun</sup>, *Corynebacterium vitaeruminis* УКМ Ас-718<sup>Tun</sup>, *Corynebacterium variabile* УКМ Ас-717<sup>Tun</sup>, *Corynebacterium glutamicum* УКМ Ас-733 і *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719. Найбільш ефективною виявилась схема імунізації, у якій використано штами *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Tun</sup> і *C. flavescens* УКМ Ас-611<sup>Tun</sup>, що характеризуються R-формою, та *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Tun</sup> (S-форма). Встановлено, що види непатогенних коринебактерій відрізняються один від одного за ступенем імуногенності. З'ясовано, що штами *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Tun</sup> та *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718<sup>Tun</sup> були найбільш імуногенними, тоді як найменш імуногенним виявився штам *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Tun</sup>.

Коринебактерії дуже поширені у навколишньому середовищі і відіграють важливу роль у деяких сферах життєдіяльності людини. Зокрема, до цього роду належать види, патогенні для людини й тварин (*Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium renale* та ін.), представники нор-

мальної мікрофлори (*Corynebacterium xerosis*), а також непатогенні види, наприклад *Corynebacterium glutamicum*. Останній широко використовують у мікробіологічній промисловості для біосинтезу лізину та глутамінової кислоти. Водночас усі представники роду *Corynebacterium* характеризуються подібними культуральними, морфологічними й фізіолого-біохімічними властивостями, а також будовою і складом біополімерів клітинної стінки [1]. Разом із тим, серед коринебактерій зустрічаються види, що характеризуються як S-, так і R-типом колоній. Так, наприклад, R-форму мають такі види коринебактерій, як: *Corynebacterium terpenotabidum* (ізолюваний із ґрунту), *Corynebacterium flavescens* (входить до складу мікрофлори поверхні дозріваючих сирів) [2, 3], *Corynebacterium renale* (збудник інфекцій сечостатевої системи тварин) та *Corynebacterium xerosis* (представник нормальної мікрофлори шкіри та ротоглотки) [4]. Крім того, один з основних варіантів *Corynebacterium diphtheriae* — var. *gravis* також характеризується R-формою колоній, тоді як інший варіант — *mitis* — має S-форму. На сьогодні в науковій літературі практично відсутні дані щодо серологічних характеристик шорстких штамів коринебактерій. У зв'язку з цим дослідження антигенних властивостей непатогенних представників роду *Corynebacterium*, що характеризуються S- і R-формою колоній, є важливою ланкою у серологічній діагностиці представників усього роду.

Останнім часом для вивчення антигенних властивостей бактерій та їхньої серодіагностики широко застосовують сучасні імунохімічні методи, зокрема імуноферментний аналіз, що передбачають застосування високоактивних і високоспецифічних імуних сироваток. Однак їх отримання утруднене через відсутність усталених схем імунізації. У більшості досліджень вони визначаються емпірично шляхом екстраполяції уже відомих схем імунізації для різних грампозитивних бактерій, насамперед *Staphylococcus aureus*. Проте застосування таких схем для одержання імуних сироваток, специфічних щодо представників роду *Corynebacterium*, не дає задовільних результатів. Це явище зумовлене унікальною будовою клітинної стінки та складом її поверхневих компонентів коринебактерій. На відміну від інших грампозитивних бактерій, вона характеризується багатошаровою структурою і має три шари: основний — пептидоглікан-арабіногалактановий каркас та ковалентно зв'язані з ним міколові кислоти. Над ним розташований наступний шар, утворений переважно біополімерами вуглеводної природи — гліканами й арабіномананами, а також гліколіпідами і ліпідами. Зовнішній шар,

як правило, містить білки й глікопротеїди, які у деяких видів коринебактерій формують S-шари [1]. Завдяки цьому антигенні властивості коринебактерій суттєво відрізняються від таких у представників інших грампозитивних бактерій.

Враховуючи усе наведене вище, метою даної роботи було вивчення особливостей імунної відповіді на антигени непатогенних коринебактерій та визначення ефективності різних схем імунізації з метою подальшого їх використання для одержання високоактивних і специфічних імуних сироваток.

## Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були штами, отримані з Української колекції мікроорганізмів (УКМ) Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України: *Corynebacterium terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Т<sup>м</sup></sup> (Тип — штам, типовий для виду), *Corynebacterium flavescens* УКМ Ас-611<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *Corynebacterium variabile* УКМ Ас-717<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *Corynebacterium vitaeruminis* УКМ Ас-718<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *Corynebacterium sp. (Brevibacterium stationis<sup>Т<sup>м</sup></sup>)* УКМ Ас-719, *Corynebacterium ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *Corynebacterium glutamicum* УКМ Ас-733. Бактерії вирощували на щільному поживному середовищі № 53 для культивування коринебактерій [5] при 30 °С.

Специфічні імуні сироватки одержували шляхом імунізації нелінійних мишей-самок віком 2 місяці інтактними клітинами штамів *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *C. flavescens* УКМ Ас-611<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Т<sup>м</sup></sup>, *Corynebacterium sp.* УКМ Ас-719 і *C. glutamicum* УКМ Ас-733. Для одержання антисироваток, специфічних до *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718<sup>Т<sup>м</sup></sup> і *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Т<sup>м</sup></sup>, мишей імунізували 7-8 разів внутрішньочеревинно суспензією клітин у зростаючому об'ємі (0,3-1,0 мл), яку стандартизували за величиною оптичної густини на КФК-3 ( $A_{590} = 0,5$ , що відповідає  $4 \cdot 10^9$  кл./мл) (схема імунізації № 1). Інтервал між ін'єкціями становив 7-14 діб. Кров у тварин забирали через 7 днів після останньої ін'єкції. Імуні сироватки, специфічні до *C. glutamicum* УКМ Ас-733, *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Т<sup>м</sup></sup> і *Corynebacterium sp.* УКМ Ас-719, одержували 14-разовою імунізацією (схема імунізації № 2). Перше введення антигену проводили підшкірно 0,1 мл суспензії клітин концентрацією  $1 \cdot 10^9$  кл./мл у суміші (1 : 1) з неповним ад'ювантом Фрейда («Sigma», США). Через 14 днів тварин реімунізували внутрішньочеревинно 5 разів суспензією клітин концентрацією  $4 \cdot 10^9$  кл./мл у зростаючому

об'ємі (0,3-1,0 мл). Через 14 днів (для штамів *C. glutamicum* УКМ Ас-733 та *Corynebacterium sp.* УКМ Ас-719) або 21 день (для штаму *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732) після останньої ін'єкції проводили повторний цикл імунізації: тваринам тричі (через кожні 7 днів) вводили 0,5-1 мл суспензії клітин концентрацією  $1 \cdot 10^9$  кл./мл; один раз - 1,0 мл ( $2 \cdot 10^9$  кл./мл) та тричі - по 0,1 мл ( $4 \times 10^9$  кл./мл). Кров у тварин також забирали на 7-й день після останньої ін'єкції. Для отримання імунних сироваток, специфічних до *C. flavescens* УКМ Ас-611<sup>Тm</sup>, *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Тm</sup> і *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Тm</sup>, застосовували схему імунізації № 3. Перше введення антигену проводили внутрішньочеревинно по 0,2 мл суспензії клітин концентрацією  $5 \cdot 10^8$  кл./мл. Через 21 день мишей реімунізували 5 разів суспензією клітин у об'ємі 0,2-1,0 мл концентрацією  $5 \cdot 10^8$  кл./мл. Інтервал між ін'єкціями становив 7 днів. Через 14 днів після останньої ін'єкції проводили повторний цикл реімунізації: тваринам 5 разів (через кожні 7 днів) вводили 0,2-1,0 мл суспензії клітин концентрацією  $1 \cdot 10^9$  кл./мл. На 4-й, а потім 10-й дні після останньої ін'єкції тваринам ще раз вводили 0,5 і 1,0 мл відповідно суспензії клітин концентрацією  $2 \cdot 10^{10}$  кл./мл. Кров у тварин забирали на 6-й день після останньої ін'єкції. Сироватку крові одержували загальноприйнятим методом [6]. У досліджах використовували індивідуальні антисироватки від 10-15 тварин, які об'єднували після визначення активності і позначали відповідно до номерів штамів: анти-610, анти-611, анти-717, анти-718, анти-719, анти-732 і анти-733. Титр індивідуальних та об'єднаних імунних сироваток визначали за допомогою імуноферментного аналізу (ELISA), який проводили так само, як описано у роботі [7].

Для диференціації макроглобулінових (19S) і гамаглобулінових (7S) антитіл імунні сироватки (у розведенні 1:10) обробляли 0,2 М розчином 2-меркаптоетанолу (2-МЕ) («Sigma», США) у фізіологічному розчині NaCl, забуференому фосфатами, рН 7,4 у співвідношенні 1:1 (об'єм/об'єм). Суміш інкубували 18-24 години при 4 °С. Після обробки 2-МЕ з сироватками проводили ELISA [7], застосовуючи в якості антигену інтактні клітини гомологічних штамів.

### Результати та обговорення

Відомо, що швидкість формування імунної відповіді залежить від ряду факторів, зокрема дози антигену, частоти антигенної стимуляції, імунного статусу індивіда та Імуногенності штаму бактерій. Зважаючи на різний ступінь Імуно-

генності досліджених штамів, зумовлений відмінністю антигенного складу клітин представників різних видів коринебактерій, у роботі застосовували різні схеми імунізації з урахуванням усіх можливих факторів, необхідних для формування повноцінної імунної відповіді. Нами було апробовано три різні схеми імунізації, в яких індивідуально для кожного виду коринебактерій підбирали дози і спосіб уведення антигену, кратність ін'єкцій та інтервали між імунізаціями.

В результаті проведених нами досліджень було з'ясовано, що ефективність імунізації тварин суттєво залежала від Імуногенності досліджених штамів, остання суттєво відрізнялася у представників різних видів непатогенних коринебактерій. Титри антитіл при імунізації тварин клітинами коринебактерій наростали дуже повільно (рис. 1). Зокрема, на 6-й тиждень першого циклу імунізації титр імунних сироваток, специфічних до штамів *C. vitæruminis* УКМ

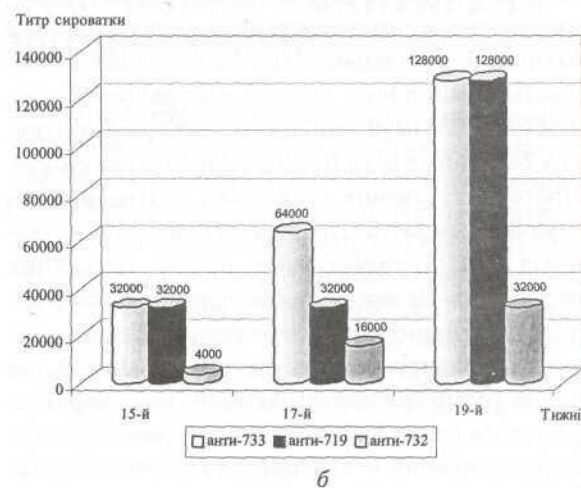
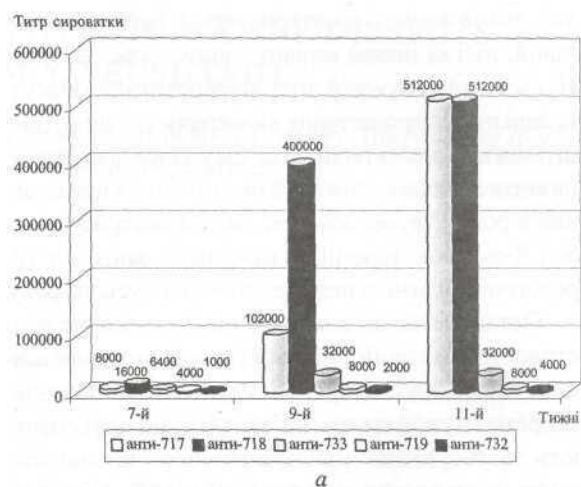


Рис. 1. Динаміка антитілоутворення при імунізації тварин клітинами штамів *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Тm</sup>, *C. vitæruminis* УКМ Ас-718<sup>Тm</sup>, *C. glutamicum* УКМ Ас-733, *Corynebacterium sp.* УКМ Ас-719 і *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Тm</sup>: перший (а) та повторний (б) цикли імунізації

Ac-718 і *C. variable* УКМ Ac-717, становив відповідно 1 : 1600 і 1 : 800. Тому для одержання активних сироваток, специфічних до цих штамів, необхідно було провести повторний цикл імунізації, протягом якого титр антитіл поступово наростав і на кінець імунізації для обох штамів становив 1:512 000 (рис. 1, а, б). Ураховуючи одержані результати, для отримання сироваток, специфічних до штамів *C. glutamicum* УКМ Ac-733, *Corynebacterium sp.* УКМ Ac-719 і *C. ammoniagenes* УКМ Ac-732, ми застосували більш напружену схему імунізації тварин, що включала використання неповного ад'юванта Фрейда. Відомо, що імунізація антигенами викликає значно інтенсивніш! Т- та В-клітинну відповідь у разі їх введення разом із сполуками, що діють як ад'юванти. Після введення суспензії бактеріальних клітин у суміші з неповним ад'ювантом Фрейда (схема імунізації № 2), збільшення кратності ін'єкцій та подовження циклів імунізації було зареєстровано більш активне наростання титру специфічних антитіл. Унаслідок цього були отримані імунні сироватки, кінцевий титр антитіл яких для штамів *C. glutamicum* УКМ Ac-733 і *Corynebacterium sp.* УКМ Ac-719 відповідно становив 1:128 000, тоді як для *C. ammoniagenes* УКМ Ac-732 - всього 1 : 32 000 (рис. 1, б). Таким чином, з усіх досліджених штамів найбільш імуногенними виявилися штами *C. vitaeruminis* УКМ Ac-718 та *C. variable* УКМ Ac-717, тоді як найменш імуногенним - штам *C. ammoniagenes* УКМ Ac-732 (рис. 2).

У зв'язку з тим, що не всі з отриманих імунних сироваток виявилися достатньо активними, нами було апробовано схему імунізації № 3. У даній схемі імунізації використовували штами *C. terpenotabidum* УКМ Ac-610 і *C. flavescens* УКМ Ac-611, яким притаманний R-тип форми колоній [5] на відміну від інших досліджених штамів, для яких характерний S-тип. Для порівняння у цій схемі використовували штам *C. variable* УКМ Ac-717, який у попередніх схемах імунізації був визначений як найбільш імуногенний. У схемі імунізації № 3, на відміну від згаданих раніше, не застосовували індивідуальні підходи для кожного окремого виду непатогенних коринебактерій та неповний ад'ювант Фрейда. Було проведено два цикли імунізації. Впродовж першого циклу поступово збільшували дозу антигену з концентрацією від  $5 \cdot 10^8$  до  $1 \cdot 10^9$  кл./мл. Наприкінці цього циклу титр імунної сироватки до штаму *C. variable* УКМ Ac-717 становив 1 : 64 000. Титри сироваткових антитіл, специфічних до штамів *C. flavescens* УКМ Ac-611 і *C. terpenotabidum* УКМ Ac-610, наростали набагато повільніше і на 8-й

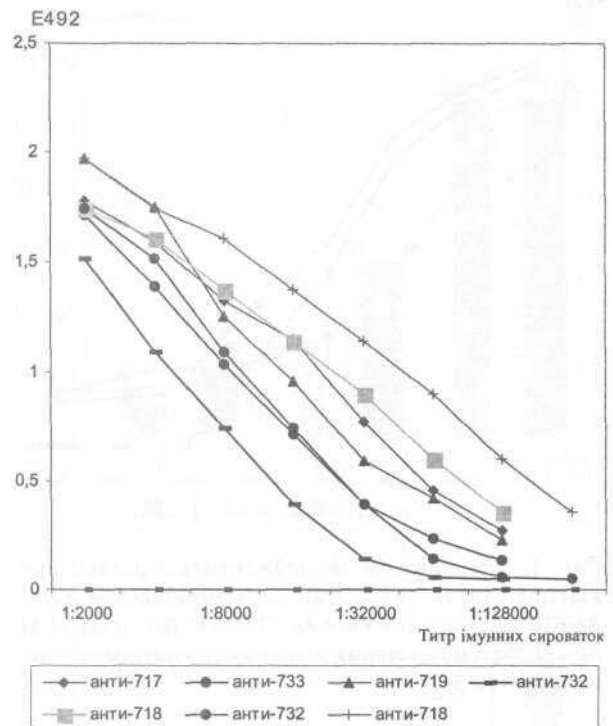


Рис. 2. Інтенсивність імуноферментної реакції при взаємодії інтактних клітин *C. variable* УКМ Ac-717™, *C. vitaeruminis* УКМ Ac-718™™, *Corynebacterium sp.* УКМ Ac-719, *C. ammoniagenes* УКМ Ac-732™™ і *C. glutamicum* УКМ Ac-733 з гомологічними імунними сироватками

тиждень імунізації відповідно становили 1:16 000 і 1 : 8000 (рис. 3). Після проведення повторного циклу імунізації (доза антигену  $2 \cdot 10^9$  кл./мл) титри антитіл у останніх двох штамів на 15-й тиждень поступово зрівнялися (1 : 128 000) і на кінець імунізації становили 1 : 512 000 для штаму *C. variable* УКМ Ac-717 та 1 : 256 000 - для штамів *C. flavescens* Ac-611 і *C. terpenotabidum* УКМ Ac-610.

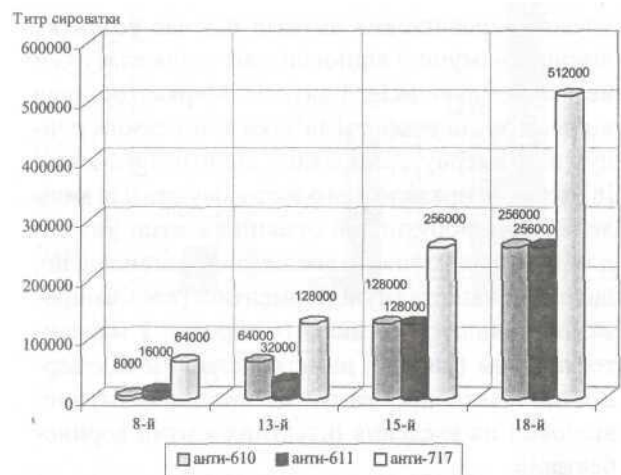


Рис. 3. Динаміка антитілоутворення при імунізації тварин клітинами штамів *C. terpenotabidum* УКМ Ac-610™™, *C. flavescens* УКМ Ac-611™™ і *C. variable* УКМ Ac-717™™

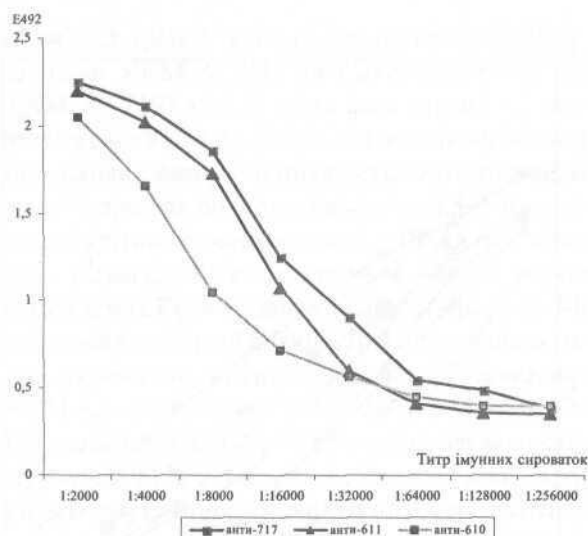
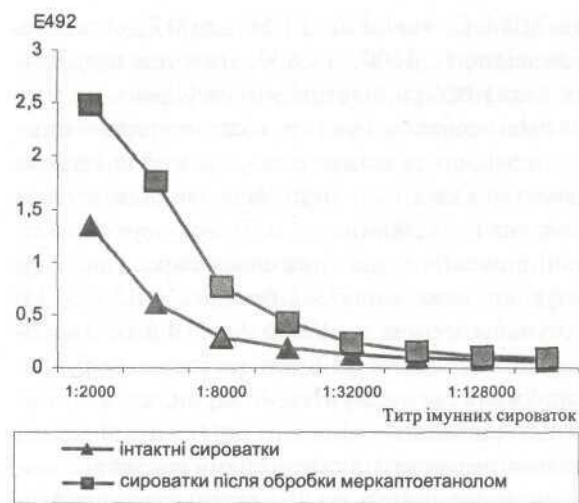


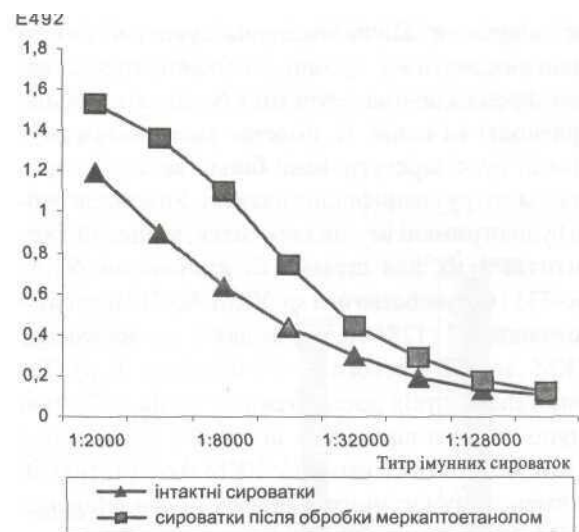
Рис. 4. Інтенсивність імуноферментної реакції при взаємодії інтактних клітин *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Тm</sup>, *C. variable* УКМ Ас-717<sup>Тm</sup> і *C. flavescens* УКМ Ас-611<sup>Тm</sup> з гомологічними імуними сироватками (схема імунізації № 3)

Високий ступінь активності імуних сироваток (рис. 4) порівняно з невисокою імуногенністю досліджених культур, очевидно, обумовлений активною стимуляцією вторинної імуної відповіді, або так званим бустер-ефектом (тобто феноменом інтенсивного розвитку імуної відповіді на повторне введення антигену). Зокрема, на 16-му тижні тваринам було введено першу роздільну дозу ( $2 \cdot 10^9$  кл./мл об'ємом 0,5 мл) антигену вже на четвертий день після попередньої ін'єкції, тим самим антигенна стимуляція імуної системи тварин відбувалася практично на піку утворення антитіл попередньої стимуляції. Після цього через 10 днів вводили другу роздільну дозу ( $2 \cdot 10^9$  кл./мл об'ємом 1 мл), завдяки чому рівень антитіл збільшився вдвічі. Відомо, що основним класом сироваткових антитіл під час розвитку вторинної імуної відповіді є антитіла класу G й незначна кількість IgM-антитіл. Меркаптоетанол відновлює дисульфідні зв'язки і тим самим руйнує пентамерну організацію антитіл IgM-класу [8], тому, як правило, його застосовують для виділення гамаглобулінової фракції антитіл. Унаслідок проведених нами досліджень встановлено, що інтенсивність імуноферментної реакції сироваток підвищується після їх обробки 2-меркаптоетанолом (рис. 5), що є додатковим підтвердженням активної стимуляції вторинної імуної відповіді на введення інтактних клітин коринє-бактерій.

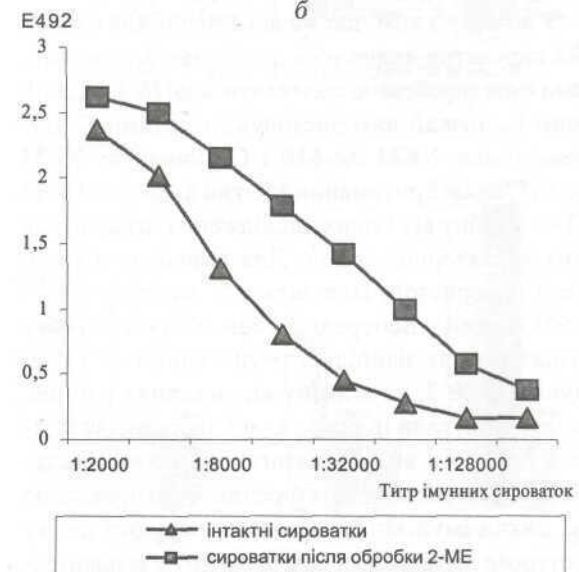
Крім того, нами було досліджено індивідуальну імунову відповідь тварин на введення інтактних клітин досліджених штамів. Для цього в ELISA



а



б



в

Рис. 5. Інтенсивність імуноферментної реакції при взаємодії інтактних клітин: а) *C. flavescens* УКМ Ас-611<sup>Тm</sup>; б) *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610<sup>Тm</sup>; в) *C. variable* УКМ Ас-717<sup>Тm</sup> з гомологічними сироватками до і після обробки 2-меркаптоетанолом



тестували сироватки, специфічні до штамів *C. variabile* УКМ Ас-717, *C. flavescens* Ас-611 і *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610, отримані в окремих мишей на 8-, 13- і 15-й тижні імунізації (рис. 6). Показано, що найбільш активна імунна відповідь виникала при імунізації тварин клітинами штаму *C. variabile* УКМ Ас-717. Водночас найвищий титр (1 : 64 000) уже після першого циклу імунізації виявляли лише в однієї тварини, тоді як у інших мишей реактивність імунної відповіді була набагато нижчою - титри антитіл відповідно становили 1 : 8000 та 1 : 32 000 (рис. 6, а). Крім того, у кожній підслідній групі виявляли тварин, у яких практично не спостерігалась індукція імунної відповіді на введення антигену. Зазначимо, що імунізація не завжди гарантує продукцію достатніх рівнів антитіл. Це можна пояснити явищем рефрактерності, тобто слабкою або повною відсутністю ефективної імунної відповіді на певні антигени [9]. Водночас при першій зустрічі організму з антигеном, тобто під час першого циклу імунізації, розвивається первинна імунна відповідь, особливістю якої є низька швидкість антитілоутворення та поява порівняно невисоких титрів антитіл. У наших дослідженнях низькі титри антитіл в ELISA, як правило, спостерігали у підслідних груп мишей, яким вводили суспензію клітин штамів *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610 і *C. flavescens* УКМ Ас-611. Низькі титри сироваток, специфічних до вказаних штамів, як упродовж першого (1 : 4000 і 1 : 1000), так і наприкінці другого циклу імунізації (1 : 16 000 і 1 : 64 000) можна пояснити слабкою імуногенністю вказаних культур (рис. 6, б і в), що корелює з даними, отриманими нами при аналізі схеми імунізації № 3 (рис. 3). Ймовірно, це пов'язано з тим, що представники видів *C. terpenotabidum* і *C. flavescens* належать до культур, для яких характерний R-тип колоній.

Таким чином, проведені дослідження показали, що найефективнішою серед усіх апробованих схем є схема імунізації № 3, завдяки застосуванню якої вдалося отримати високоактивні імунні сироватки навіть для слабоімуногенних штамів коринебактерій. Надалі її можна рекомендувати для одержання високоактивних імунних сироваток з метою розробки тест-систем для серологічної діагностики представників роду *Corynebacterium*. Найбільш імуногенними серед усіх досліджених штамів непатогенних коринебактерій виявилися представники видів *C. vitaueruminis* УКМ Ас-718<sup>Т<sup>м</sup></sup> та *C. variabile* УКМ Ас-717<sup>Т<sup>м</sup></sup>, тоді як найменш імуногенним - *C. amoniagenes* УКМ Ас-732<sup>Т<sup>м</sup></sup>. Штами *Corynebacterium sp.* УКМ Ас-719, *C. glutamicum* УКМ

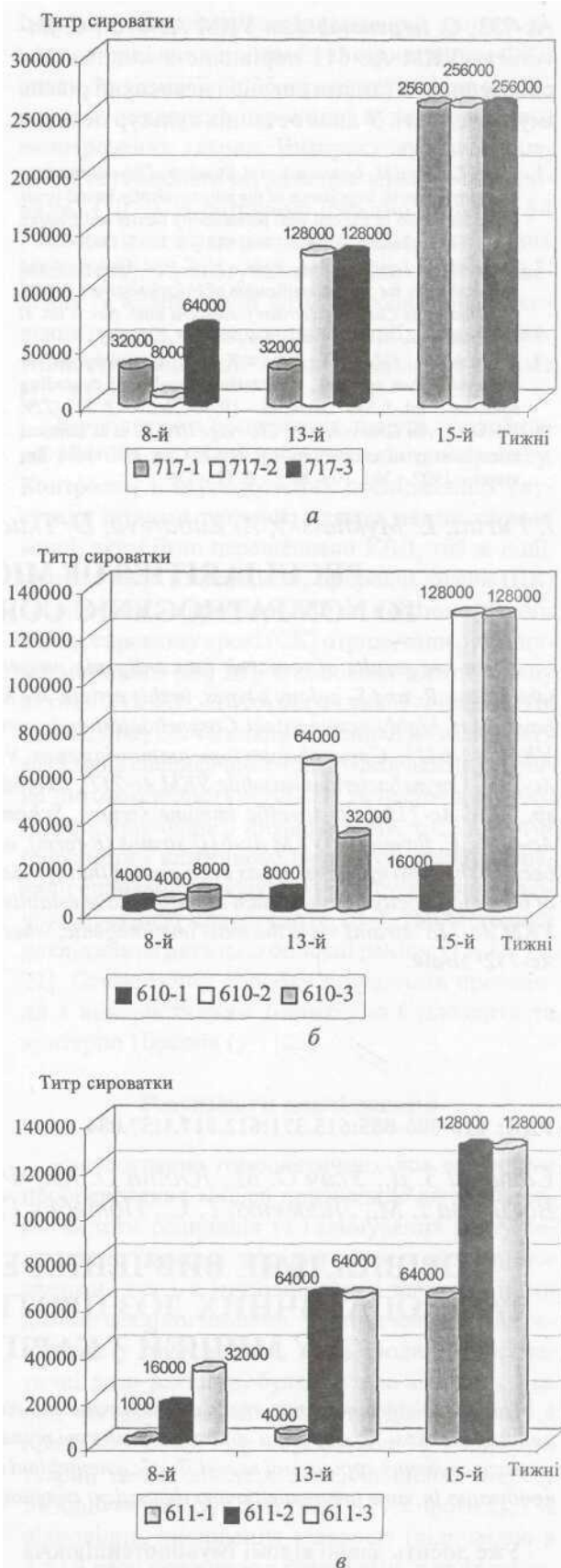


Рис. 6. Динаміка антитілоутворення при імунізації тварин клітинами штамів коринебактерій: а) *C. variabile* УКМ Ас-717; б) *C. terpenotabidum* УКМ Ас-610; в) *C. flavescens* УКМ Ас-611. 1, 2, 3 - різні тварини

Ac-733, *C. terpenotabidum* УКМ Ac-610 і *C. flavescens* УКМ Ac-611 порівняно з іншими дослідженими штамми виявили невисокий рівень імуногенності. У двох останніх культур це може

бути пов'язане з тим, що в клітинній стінці вказаних видів домінують монокориноміколати трегалози, завдяки яким формується R-тип колоній.

1. Puech V., Chami M., Lemassu A. et al. Structure of the cell envelope of corynebacteria: importance of the non-covalently bound lipids in the formation of the cell wall permeability barrier and fracture plane // Microbiology.-2001.-Vol. 147.-P. 1365-1382.
2. Barksdale L., Laneelle M.-A., Pollice M. C. et al. Biological and chemical basis for the reclassification of *Microbacterium flavum* Orla-Jensen as *Corynebacterium flavescens* nom. nov. // Int. J. Sys. Bacteriol.- 1979.- Vol. 29.- № 3.- P. 222-233.
3. Takeuchi M., Takeshi S., Nihira T. et al. *Corynebacterium terpenotabidum* sp. nov., a bacterium capable of degrading squalene // Int. J. Sys. Bacteriol.- 1999.- № 20.- P. 223-229.
4. Funke G., von Graevenitz A., Clarridge HM. E, et al. Clinical microbiology of coryneform bacteria // Clin. Microbiol. Reviews.- 1997.-Vol. 10.-№ 1.-P. 125-159.
5. Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH. Catalogue of strains. 4-th ed.- 1989- 459 p.
6. Антитела. Методы / Под. ред. Д. Кэрти.- М.: Мир, 1991.- Т. 1.-285С.
7. Михальский Л. А., Ногина Т. М., Фуртат И. М. Исследование серологических свойств сапрофитных коринебактерий с помощью иммуноферментного анализа // Микробиол. журн.- 1997.- Т. 59.- № 5.- С. 22-27.
8. Скок М. В. Основи імунології. Курс лекцій.-К.: Фітоцентр, 2002.- 152 с.
9. Деміховська О. В. Епідеміологічна характеристика дифтерії 90-х років // Інфекційні хвороби.- 2001.- № 4.- С. 5-11.

/ . Furiat, L. Mykhalsky, A. Zubareva, D. Tkachova

## PECULIARITIES OF MICE IMMUNE RESPONSE TO NON-PATHOGENIC CORYNEBACTERIA ANTIGENS

*There are results of research into antigenic properties for some non-pathogenic corynebacteria species, which have R- and S- colony types, in this article. We have approved three different immunization schemes and have taken highly active intact Corynebacterium terpenotabidum УКМ Ac-610<sup>T</sup>, Corynebacterium flavescens УКМ Ac-611<sup>T</sup>, Corynebacterium ammoniagenes УКМ Ac-732<sup>T</sup>, Corynebacterium vitaeruminis УКМ Ac-718<sup>T</sup>, Corynebacterium variabile УКМ Ac-111<sup>T</sup>, Corynebacterium glutamicum УКМ Ac-733 and Corynebacterium sp. УКМ Ac-719 cells specific immune serums. Scheme of immunization, in which C. terpenotabidum УКМ Ac-610<sup>T</sup>, C. flavescens УКМ Ac-611<sup>T</sup> strains (R-form), and C. variabile УКМ Ac-717<sup>T</sup> strain (S-form) were used, became the most effective. It has been proved that species of non-pathogenic corynebacteria differ by the degree of immunogenicity between each other. We have established that C. variabile УКМ Ac-717<sup>T</sup> and C. vitaeruminis УКМ Ac-718<sup>T</sup> strains were the most immunogenic, whereas the least immunogenic was C. ammoniagenes УКМ Ac-732<sup>T</sup> strain.*