

Наименование проекта: ИРН №АР09259983 «Разработка экспресс-теста для диагностики сальмонеллезного аборта лошадей на основе моноклональных антител».

Актуальность: Коневодство в РК является важнейшей отраслью животноводства, в настоящее время численность лошадей составляет более 3 180 000 голов. Сальмонеллезный аборт кобыл – инфекционная болезнь, сопровождающаяся абортами и рождением нежизнеспособного плода. Экономический ущерб складывается из потери воспроизводительной способности конематок, недополучения приплода, снижения продуктивности кобыл и затрат на ветеринарные препараты и дезинфекцию. Важнейшими мерами развития этого направления является обеспечение здоровья животных и повышение эффективности диагностики заболеваний. Основным методом диагностики является бактериологический, но он недостаточно чувствителен, длителен по времени и сильно зависит от качества материала. Согласно рекомендациям МЭБ, могут использоваться ПЦР, однако, применение ПЦР затруднительно, из-за высокой стоимости оборудования и тест-систем. ИФА может быть использован, но не позволяет дифференцировать возбудитель.

Данный проект предусматривает разработку отечественного ИХА теста для выявления и одновременной дифференциации возбудителя сальмонеллезного аборта лошадей. Тест позволит проводить анализ вне лабораторий и получать результат в течение 15 минут. Может быть использован для мониторинговых исследований вместо трудоемкого бактериологического анализа. Разработка востребована не только в Казахстане, но и странах СНГ, где данная инфекция также имеет широкое распространение. В настоящее время аналогов в Республике Казахстан нет.

Цель: разработка отечественного экспресс-теста на основе моноклональных антител для диагностики сальмонеллезного аборта лошадей, который позволит быстро и точно выявлять инфицированных животных.

Члены исследовательской группы:

Руководитель проекта: Боровиков С.Н., к.б.н., и.о.профессора. Индекс Хирша (h-index)-3, профиль (<http://orcid.org/0000-0002-9721-9732>).

Члены исследовательской группы:

Абдрахманов С.К., д.в.н., ведущий научный сотрудник. Индекс Хирша (h-index)-6, профиль (<http://orcid.org/0000-0003-3707-3767>).

Акибеков О.С. – к.в.н., старший научный сотрудник. Индекс Хирша (h-index) -2, профиль (<http://orcid.org/0000-0002-8647-0083>).

Жумалин А.Х. магистр, научный сотрудник. Индекс Хирша (h-index) – 2, профиль (<http://orcid.org/0000-0003-2057-4186>).

Койбагаров М.А., к.в.н., научный сотрудник. Индекс Хирша (h-index)-1, профиль (<https://orcid.org/0000-0001-7428-7620>).

Шевцова Е.С., научный сотрудник. Индекс Хирша (h-index) -5, профиль (<https://orcid.org/0000-0002-7221-5866>).

Сыздыкова А.С., магистр, научный сотрудник, профиль (<http://orcid.org/0000-0002-8647-0083>).

Ожидаемые и достигнутые результаты:

В рамках выполнения проекта из различных хозяйств отобрано 247 проб образцов биологического и патологического материала. Исследование образцов методом ПЦР и ИФА выявило наличие ДНК возбудителя *Salmonella spp* и специфических антител.

Впервые проведена полногеномная характеристика 3 штаммов *Salmonella serovar abortus equi*, выделенных из образцов материала на территории Республики Казахстан. Созданы штаммы *E. coli*, продуцирующие рекомбинантный белок OmpX *S. abortus equi*. Проведена наработка и очистка рекомбинантных белков OmpX *Salmonella enterica*. Определена специфичность рекомбинантных белков, которые демонстрировали высокую эффективность при исследовании сывороток лошадей из неблагополучного хозяйства.

В результате гибридизации иммунных спленоцитов с миеломной линией клеток получены гибридные клетки, продуцирующие антитела к OmpX *S. abortus equi*. Изучена их иммунохимическая характеристика, показатели которой позволяют использовать для разработки экспресс-теста для выявления возбудителя сальмонеллезного аборта лошадей.

Изготовлены компоненты и проведена сборка экспресс - теста для обнаружения возбудителя сальмонеллезного аборта лошадей в образцах материала. Проведены лабораторные испытания разработанного теста, которые подтверждают его эффективность, поскольку не уступают коммерческому аналогу, позволяют получить результаты в течение 15 минут вне лаборатории.

Разработана и утверждена нормативно-техническая документация на производство и применение ИХА-теста для экспресс-диагностики сальмонеллезного аборта лошадей. Тест может быть рекомендован для внедрения в ветеринарную практику.

Получено положительное решение по заявке на патент РК «Способ получения антигена белков внешней мембраны из бактерий рода *Salmonella spp*».

По результатам исследований опубликованы следующие статьи в рецензируемых научных изданиях.

1. Боровиков С.Н., Сыздыкова А.С. Разработка иммуноферментного анализа для серологической диагностики сальмонеллезного аборта лошадей // Вестник науки Казахского агротехнического университета им.С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2022. - №3 (114). –Ч.2. - С. 111-119
2. Borovikov S.N., Syzdykova A.S., Zhumalin A.Kh. The use of *Salmonella abortus equi* protein antigen for serological diagnosis of mares abortion // European Academic Science and Research. – 2022. – P.15-16.
3. Borovikov S., Syzdykova A., Akibekov O. and Tursunov K. The Use of Various Tests for the Serological Diagnosis of *Salmonella Abortion* in Horses in Kazakhstan //Int J Vet Sci. - 2023. - P.1-4 CiteScore Q2

4. Sergey Borovikov, Anara Ryskeldina, Kanat Tursunov, Alfiya Syzdykova, Orken Akibekov. Expression of recombinant *Salmonella enterica* OmpX protein and study of its possible use for serological diagnosis of Salmonella abortion in mares//Veterinary World.-2023, 16(9):1790-1795. CiteScore Q1.

5. Sergey Borovikov, Marat Kuibagarov, Orken Akibekov, Anna Muranets. Clinical case of *Salmonella* detected in an aborted mare fetus and its characteristics//Int J Vet Sci. - CiteScore Q2 (принята в печать)

Целевые потребители научной продукции: «Республиканская ветеринарная лаборатория» МСХ РК, областные и районные лаборатории; «Национальный референтный центр по ветеринарии; хозяйствующие субъекты, занимающиеся коневодством.

Информация для потенциальных пользователей:

Разработан экспресс-тест для диагностики сальмонеллезного аборта лошадей, позволяющий вне лабораторных условий проводить анализ биологического и патологического материала и получать достоверные результаты в течение 15 минут. Использование теста в ветеринарной практике позволит прямо в хозяйствах проводить мониторинг инфекции и заменить длительный и трудоемкий бактериологический анализ. Кроме того, тест может быть использован для быстрой и достоверной оценки качества конины на предмет обсемененности микробами рода *Salmonella*.

Project Title: IRN No. AP09259983 "**Development of an Express Test for the Diagnosis of Salmonella Abortion in Horses Based on Monoclonal Antibodies.**"

Relevance: Equine husbandry in the Republic of Kazakhstan is a vital sector of animal husbandry, with a current horse population exceeding 3,180,000. Salmonella abortion in mares is an infectious disease characterized by abortions and the birth of non-viable foals. The economic impact includes the loss of reproductive capacity in broodmares, reduced foal production, decreased mare productivity, and expenses for veterinary drugs and disinfection. The development of this project aims to enhance animal health and improve the efficiency of disease diagnostics. The primary diagnostic method is bacteriological, but it is insufficiently sensitive, time-consuming, and highly dependent on the quality of the material. According to recommendations, PCR can be used, but its application is challenging due to high equipment and test system costs. ELISA may be used but does not allow for the differentiation of the causative agent.

This project involves the development of a domestic ELISA test for the detection and simultaneous differentiation of the causative agent of salmonella abortion in horses. The test will enable analysis outside laboratories, providing results within 15 minutes. It can be used for monitoring studies instead of labor-intensive bacteriological analysis. The development is in demand not only in Kazakhstan but also in CIS countries where this infection is widespread. Currently, there are no analogs of this technology in the Republic of Kazakhstan.

Objective: To develop a domestic express test based on monoclonal antibodies for the diagnosis of Salmonella abortion in horses, allowing for the rapid and accurate detection of infected animals.

Research Team Members:

Project Leader: Borovikov S.N., candidate of biological sciences, Professor. H-Index: 3, Profile (<http://orcid.org/0000-0002-9721-9732>).

Research Team Members:

Abdrahmanov S.K., D.Sc., Senior Researcher. H-index: 6, Profile (<http://orcid.org/0000-0003-3707-3767>).

Akibekov O.S. – Ph.D., Senior Researcher. H-index: 2, Profile (<http://orcid.org/0000-0002-8647-0083>).

Zhumalin A.Kh., Master, Researcher. H-index: 2, Profile (<http://orcid.org/0000-0003-2057-4186>).

Kuibagarov M.A., Ph.D., Researcher. H-index: 1, Profile (<https://orcid.org/0000-0001-7428-7620>).

Shevtsova E.S., Researcher. H-index: 5, Profile (<https://orcid.org/0000-0002-7221-5866>).

Syzdykova A.S., Master, Researcher. H-index: 3 Profile (<http://orcid.org/0000-0002-8647-0083>).

Expected and Achieved Results:

During the project, 247 samples of biological and pathological material were collected from various farms. PCR and ELISA analysis revealed the presence of *Salmonella spp* DNA and specific antibodies.

The complete genome characterization of three strains of *Salmonella serovar abortus equi* isolated from material samples in the Republic of Kazakhstan was conducted for the first time. *E. coli* strains producing recombinant OmpX *S. abortus equi* protein were created. Recombinant OmpX *Salmonella enterica* proteins were developed and purified. The specificity of recombinant proteins was determined, demonstrating high efficiency in studying sera from horses in affected farms.

Hybrid cells producing antibodies to OmpX *S.abortus equi* were obtained by hybridizing immune splenocytes with a myeloma cell line. Their immunochemical characteristics were studied, indicating their potential use in developing an express test for detecting the causative agent of salmonella abortion in horses.

Components were manufactured, and assembly of the express test for detecting the causative agent of salmonella abortion in horses in material samples was carried out. Laboratory tests of the developed test confirmed its effectiveness, providing results within 15 minutes outside the laboratory.

Normative-technical documentation for the production and application of the ELISA test for the express diagnosis of salmonella abortion in horses has been developed and approved. The test can be recommended for implementation in veterinary practice.

A positive decision on the patent application for the method of obtaining an antigen of outer membrane proteins from bacteria of the genus *Salmonella spp* was obtained in the Republic of Kazakhstan.

The following articles have been published as a result of the research:

Borovikov S.N., Syzdykova A.S. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for serological diagnosis of Salmonella abortion in horses // Bulletin of Science of the Kazakh Agro-Technical University named after S. Seifullin (interdisciplinary). - 2022. - No3 (114). – Part 2. - P. 111-119.

Borovikov S.N., Syzdykova A.S., Zhumalin A.Kh. The use of Salmonella abortus equi protein antigen for serological diagnosis of mares abortion // European Academic Science and Research. – 2022. – P.15-16.

Borovikov S., Syzdykova A., Akibekov O. and Tursunov K. The Use of Various Tests for the Serological Diagnosis of Salmonella Abortion in Horses in Kazakhstan // Int J Vet Sci. - 2023. - P.1-4 CiteScore Q2.

Sergey Borovikov, Anara Ryskeldina, Kanat Tursunov, Alfiya Syzdykova, Orken Akibekov. Expression of recombinant Salmonella enterica OmpX protein and study of its possible use for serological diagnosis of Salmonella abortion in mares // Veterinary World.-2023, 16(9):1790-1795. CiteScore Q1.

Sergey Borovikov, Marat Kuibagarov, Orken Akibekov, Anna Muranets. Clinical case of Salmonella detected in an aborted mare fetus and its characteristics // Int J Vet Sci. - CiteScore Q2 (accepted for publication).

Target Consumers of Scientific Products: "Republican Veterinary Laboratory" Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, regional and district laboratories; "National Reference Center for Veterinary Medicine"; entities engaged in horse breeding.

Information for Potential Users:

An express test for the diagnosis of salmonella abortion in horses has been developed, allowing analysis of biological and pathological material outside laboratory conditions and providing reliable results within 15 minutes. The use of the test in veterinary practice will enable on-site monitoring of infection, replacing the lengthy and labor-intensive bacteriological analysis. Additionally, the test can be used for a rapid and reliable assessment of the quality of horse meat for microbial contamination by *Salmonella spp.*