

«Сейфуллин окулары–12: Ғылым жолындағы жастар - болашақтың инновациялық әлеуеті" атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения–12: Молодежь в науке-инновационный потенциал будущего». – 2016. – Т.І, ч.1. – С. 383-385

## **ИММУНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К БЕЛКОВОМУ АНТИГЕНУ *SAMPYLOBACTER FETUS***

*Жармышева М.Е., Кудайбергенова Э.Б.  
Курмангалиева Ж.Е.*

Кампилобактериоз – инфекционная болезнь, преимущественно крупного рогатого скота и овец, проявляющаяся поражением половых органов, частыми перегулами, бесплодием, массовыми абортами и рождением нежизнеспособного приплода. Основным возбудителем кампилобактериоза крупного рогатого скота является *C. fetus subsp. fetus* – облигатный паразит, вызывающий бесплодие и аборт у коров, передающийся половым путем. Кампилобактериоз крупного рогатого скота широко распространён в нашей стране и представляет собой большую опасность для отечественного животноводства [1].

Механизм развития инфекционного процесса при кампилобактериозе неоднозначен. У маточного поголовья крупного рогатого скота заболевание начинается с размножения возбудителя во влагалище и последующего его передвижения в матку, яйцеводы, в яичники. Процесс миграции протекает в течение 30 дней. Продукты жизнедеятельности микроба вызывают воспалительный процесс в слизистой оболочке родополовых путей, гибель эмбрионов и бесплодие. Острый процесс длится 3-4 месяца. В последующем в зависимости от резистентности организма животного и вирулентности возбудителя последний может контаминировать материнскую плаценту, плодные оболочки, нарушить плацентарное кровообращение. В отдельных случаях вибрионы могут оказаться также в желудке, печени, в тканях мозга плода и вызвать его гибель. В неблагополучных стадах до 30% коров донашивают плод, но телята рождаются слабыми и погибают в первые дни их жизни [2].

Для диагностики кампилобактериоза в ветлабораториях РК используют бактериологические, биологические и серологические методы. Основным методом является бактериологический, однако, бактериологическая диагностика кампилобактериоза очень трудоемка, для роста кампилобактерий требуются условия с повышенным содержанием углекислого газа и приобретение дорогих селективных сред. Серологическую диагностику проводят путем постановки РА, РСК (РДСК) и методом флуоресцирующих антител. У крупного рогатого скота обычно РА ставят с влагалищной слизью (РАВС). Однако данные методы не обеспечивают

постановки точного диагноза и занимают значительное время для их постановки [3].

Современные тенденции развития животноводства в нашей стране требуют более точных и быстрых методов выявления зараженных животных. Одним из реагентов диагностической системы являются высокоспецифические иммуноглобулины. В этой связи, целью нашей работы явилось иммунизация лабораторных животных для получения поликлональных антител к антигену *Campylobacter fetus*, как одного из компонентов экспресс-теста для выявления возбудителя кампилобактериоза у животных [4].

Поликлональные сыворотки к кампилобактериозному антигену получали путем подкожной иммунизации кроликов. Для этого были сформированы две группы кроликов, животным опытной группы вводили антиген, а вторая группа служила контролем. Иммунизацию животных проводили путем введения белкового антигена в пять точек вдоль хребта с соблюдением правил асептики.

С целью получение наивысших титров специфических антител нами использовалась следующая схема, которая приведена в таблице 1.

Таблица 1 – Схема иммунизации кроликов белковым антигеном *Campylobacter fetus*

Дни иммунизации	Адьюванты	Доза, мкл	Способ иммунизации
1	Полный адьювант Фрейнда	1000	Подкожно
20	Неполный адьювант Фрейнда	1000	Подкожно
30	Неполный адьювант Фрейнда	1000	Подкожно
40	Неполный адьювант Фрейнда	1000	Подкожно
60	Отбор крови для тестирования		
60	Физиологический раствор	1000	Внутривенно
75	Отбор крови для тестирования		

Как видно из таблицы иммунизацию проводили путем введения белкового антигена в 1-й день – подкожно, в дозе 1 мл (концентрация 0,5 мг/мл) с полным адьювантом Фрейнда, 20-й, 30-й и 40-й день – подкожно, в дозе 1 мл (0,5 мг/мл) с неполным адьювантом Фрейнда. На 60-й день проводили отбор крови и тестирование, после этого антиген вводили внутривенно со стерильным физиологическим раствором (бустирование).

После окончания цикла иммунизации проводили пробный забор крови для определения титра антител. Взятие крови у кроликов осуществляли из краевой ушной вены. Тестировали пробы крови в реакции иммунодиффузии (РИД) и в непрямом варианте иммуноферментного анализа (ИФА). В результате проведенных исследований, в сыворотках крови иммунизированных животных было выявлено наличие высоких титров специфических антител.

Так, в реакции иммунной диффузии в 1%-ом агарозном геле максимальный титр специфических антител к белковому антигену *Campylobacter fetus*, после первого отбора крови составил 1:4, после реиммунизации и тотального отбора крови титр составил 1:8. В ИФА максимальный титр специфических антител в первом тестировании составил 1:3200-1:6400, при повторном тестировании титр увеличился до показателей 1:6400-1:12800 (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты тестирования сывороток крови иммунизированных животных

Группы	Длительность иммунизации	Метод тестирования	
		РИД	ИФА
I	60-й день	1:4	1:6400
I	75-й день	1:8	1:12800
Контрольная	-	-	-
Примечание – Тестирование сывороток проводилось в 3-х повторях, приведены максимальные показатели.			

Таким образом, приведенная выше схема иммунизации животных позволила получить поликлональные сыворотки, содержащие высокие титры специфических антител к исходному антигену. Полученные сыворотки будут подвергнуты дополнительной очистке и использованы в разработке экспресс-теста для обнаружения возбудителя кампилобактериоза крупного рогатого скота.

### Список литературы

1. Жансеркенова О.О., Лучко М.А. Специфическая профилактика кампилобактериоза крупного рогатого скота. Изучение антигенных и иммуногенных свойств опытных серий инактивированной вакцины на кроликах и коровах. // Бюл. ВИЭВ. – 1991. – Вып. 6 (75-76). – С. 19-22.
2. Nachamkin H.J., Blazer M.J., Tomkins J.S., et al. *Campylobacter jejuni*. Current Status and Future Trends. American Society for Microbiology. – 1992. – P. 125-138.
3. Белоусов В.И., Гусев А.А. Актуальные проблемы лабораторной диагностики заразных болезней животных // Ветеринария. – 1999. – №7. – С.3-6.

4. Gürtürk K., Ekin I.H., Aksakal A., Solmaz H. Detection of Campylobacter antibodies in sheep sera by a Dot-ELISA using acid extracts from *c. fetus* ssp. *fetus* and *c. jejuni* strains and comparison with a complement fixation test. // J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. – 2002. – Apr; №49(3). – P. 146-51.

Научный руководитель: к.б.н., доцент Боровиков С.Н.