

С. Сейфуллиннің 125 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 15: Жастар, ғылым, технологиялар: жаңа идеялар мен перспективалар» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 15: Молодежь, наука, технологии - новые идеи и перспективы», приуроченной к 125 летию С. Сейфуллина. - 2019. - Т.1, Ч.1 - Б.119-120

## БРУЦЕЛЛАНЫҢ ЛИПОПОЛИСАХАРИДТІ АНТИГЕНІН АЛУ

*Абзалқызы Т., Сураншиев Ж. А.*

Бруцеллез еліміздің ветеринария ғылымы мен практикасындағы өзекті мәселелерінің бірі. Ол зооантропонозды инфекция ретінде ауру тараған аймақтардағы мал шаруашылығына үлкен экономикалық зиян келтіріп қана қоймай, адамдардың денсаулығына да қауіп төндіреді. Сондықтан, бруцеллезбен күресу мемлекеттік тұрғыда қарастырылады. Кешенді сауықтыру шараларының басты факторлары – ол бруцеллезге шалдыққан жануарларды уақытысында анықтап, оларды дер кезінде оқшаулау болып табылады. Бруцеллездің қоздырғышы – *Brucella* туысының бактериялары, ададамдар үшін зардаптысы *Brucella melitensis* [1, 2].

Елімізде бруцеллезді анықтауда кең қолданылып жүрген серологиялық реакцияларда бруцеллалардың корпускулярлы антигендері қолданылады. Бруцелла мен басқа грам-теріс бактерия жасушаларының кейбір антигендік детерминанталары бір-біріне ұқсас болғандықтан аталмыш әдістер кейде жалған оң нәтижелер беріп, сау малдарды бекерден бекерге етке тапсыруға себепкер болады [3,4,5].

Бруцелла бактериясының сыртқы мембранасы басқа грам теріс микроорганизмдердікі сияқты липополисахаридтен (ЛПС), фосфолипидтен, липопротеиннен және белоктан тұрады. Бруцелланың липополисахаридті (ЛПС) антигені өзінің күшті иммуномодуляциялаушы қасиеттерінің арқасында диагностикалық және алдын алу препараттарын әзірлеуге арналған перспективті антигендердің бірі ретінде қарастырылады. Биологиялық функцияларды, химиялық құрылым мен серологиялық белсенділікті анықтау үшін тазартылған ЛПС препараттары болуы қажет [6].

Жұмыстың мақсаты протеолитикалық ферменттермен материалды жұмсақ өңдеу арқылы антигенді тазарту кезеңдерінің мерзімін қысқарту және бөлу процедурасын жеңілдетуге негізделген бруцелланың ЛПС-ті антигенін алудың оңтайлы әдісін әзірлеу болып табылады.

Липополисахаридтерді О. Вестфаль және К. Ян әдісі бойынша дайындадық [7]. Екі тәуліктік *Brucella abortus* 19 штамының жасуша суспензиясы физиологиялық ерітіндімен бірнеше рет шайылып, центрифуга көмегімен 30 минут бойы 5000 айн/минут жағдайында тұндырылды. Сосын бактерия жасушасының тұнбасын 65-68°C температурада дистилденген сумен суспензиялап, оған бірдей көлемде 65-68°C қыздырылған фенолды қостық. Одан кейін қоспаны ақшыл эмульсия түсіндей болғанша жақсылап араластырып, 30 минут бойы 65-68°C ұстадық. Уақыт өткен соң 10°C мұзды

моншада суыттық. Пайда болған эмульсияны 25 минут аралығында 3500 айн/мин центрифугалау барысында сулы, фенолды және тұнба қабаттары пайда болды. Үстіңгі сулы қабатты алып тастап, фенолды қабатқа екі есе көлемде этанол қосып араластырдық да, 1 сағат аралығында минус 60°C температурада салқындатып, липополисахаридтерді 25 минут бойы 3500 айн/мин. центрифугалау арқылы тұндырдық. 50% РНҚ түзетін тұнбаны кептіріп 0,1 мл дистилденген суда еріттік. Ерімейтін бөлшектері центрифугалау (3000 айн/мин 10 мин) арқылы бөлінді. Алынған ерітіндіні рН-ы 7,2–7,4 фосфатты тұз ерітіндісіне қарсы 16–18 сағат бойы +4°C температурада диализге қойып, оларды антиген ретінде қолдандық. Алынған антиген құрамындағы көмірсулардың мөлшері 0,25 мг/мл құрады.

Зерттеу жұмыстарының келесі кезеңінде алынған антигендік препараттың иммуногендік қасиетін анықтау жұмыстары жүргізілді. Иммунодеуге 10-12 апталық зертханалық ақ тышқандары алынды. Бірінші күні толымсыз Фрейд адьювантының 0,1 мл-імен араластырылған ЛПС антигенінің 0,1 мл-і зертханалық ақ тышқандардың құрсақ қуысына енгізілді. Ал 7, 11, 12, 13 күндері зертханалық тышқандарға 0,1 мл антигенді фосфатты тұз ерітіндісімен араластырып енгіздік. Соңғы иммунодеуден кейін 4 күн өткен соң жануарлардың қан сарысулары иммунды ферменттік талдаудың (ИФТ) «жанама» қойылымымен тексерілді. Бақылау ретінде антиген егілмеген сау зертханалық ақ тышқандардың қан сарысуы пайдаланылды.

ИФТ-дың «жанама» қойылымында көнцентрациясы 0,01 мг/мл болатын ЛПС антигенмен полистиролды планшет шұңқыршалары сенсбилизацияланып, 16–18 сағат бойы +4°C температурада инкубацияланды. Одан кейін планшет шұңқыршаларын твин-20 қосылған 0,01М фосфатты тұз ерітіндісімен (рН 7,2-7,4) бірнеше рет шайып алдық. Зерттелетін иммунды қан сарысулары мен бақылау ретінде алынған негативті қан сарысуларының үлгілерін твин-20 қосылған 0,01М фосфатты тұз ерітіндісімен 1:100 сұйылтымынан бастап полистиролды планшеттің екі қатарына титрленіп, 1 сағат 37°C температура ұстадық. Инкубация уақыты аяқталғаннан кейін планшеттерді бірнеше рет шайдық. Сонан соң планшет шұңқыршаларын пероксидазамен таңбаланған тышқандардың иммуноглобулиндеріне қарсы антиденелермен – конъюгатпен сансбилизацияладық (1 сағат 37°C). Планшет шұңқыршықтары твин-20 қосылған 0,01М фосфатты тұз ерітіндісімен бірнеше рет шайылып, ферментативті реакцияны өрбіту үшін, шұңқыршықтарға субстрат ерітіндісін қосқаннан кейін планшетті 5-10 минут бөлме температурасында қараңғы жерде ұстадық. Реакция нәтижелері 492 нм толқын ұзындығындағы спектрофотометр көмегімен анықталды. Оң нәтиже ретінде 1:100 сұйылтылымындағы негативті бақылау қан сарысуының оптикалық тығыздығынан (ОТ) екі есе немесе одан да көп ОТ көрсеткен қан сарысуының сұйылтымдары алынды.

Бруцеллалардың липополисахаридті антигенімен иммунделген зертханалық ақ тышқандардың қан сарысуларындағы телімді антиденелер 1:6400 – 1:25800 аралығындағы титрлердейқындалды. Сонымен, *Brucella*

*abortus 19* штамының липополисахаридтерін зертханалық ақ тышқандардың құрсақ қуысына еккен жағдайда, олардың иммундық жүйесі иммундеуде қолданға препаратқа қарсы антиденелердің қарқынды түрде синтезделуін камтамасыз ететіндігін көрсетті.

### Әдебиеттер тізімі

1. Иванов Н. П. Состояние учения о бруцеллезе и меры борьбы с ним // Ветеринария (Қаз.) – Алматы – 2009 – № 3 (7) – С. 24-37.
2. Ким А.А., Колмогорова Е.Л., Рахимбекова Д.К., Лукьянченко Н.Г., Каратаева Л.С. Бруцеллез – краевая патология Казахстана // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – С. 162-164.
3. Sutherland S., Cras D. Evolution of new and currently used diagnostic procedures for bovine brucellosis // Austral. Vet. Journ.-1978. –Vol.54, 2. –P.329-332.
4. Vidmantas Paulauskas, Irena Michalskienė, Jūratė Buitkuvienė, Marija Stankevičienė. Comparative diagnostic testing of brucellosis in lithuania // Veterinarija ir zootechnika. –2005. T. 32 (54). –P. 20-25.
5. Sutherland S. Immunology of bovine brucellosis // Veter. Bull. –1980. –Vol. 50, 5. –P.359-369.
6. Moreno E., Mayer H., Moriyon I. Characterization of a native polysaccharide hapten from *Brucella melitensis*. – Inf. Imm. –1987. –V.55. – P.2850-2859.
7. Вестфаль О, Ян К. В кн: Методы химии углеводов. // Ред. Кочетков И.К. –М. –«Мир» -1967. –С.325-332.