

«Сейфуллин окулары – 18(2): «XXI ғасыр ғылыми - трансформация дәуірі» халықаралық ғылыми - практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения - 18(2): «Наука XXI века - эпоха трансформации». - 2022.- Т.І, Ч.ІІ.- С. 136-138.

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИГЕНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДЕЗИНТЕГРАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ *SALMONELLA ABORTUS EQUI*

Боровиков С.Н., к.б.н., и.о.профессора

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, г. Астана

Жумалин А.Х., м.с-х.н.

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, г. Астана

Сыздыкова А. С., м.т.н.,

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, г. Астана

Сальмонеллёзный аборт – распространенная болезнь жеребых кобыл, сопровождающаяся преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода. Возбудитель *Salmonella abortus equi* открыт в 1893 году учеными Smith и Kilborne в Америке, а в 1901 году Д.В. Поляковым в России [1].

Salmonella abortus equi является одним из наиболее экономически значимых патогенов лошадей и имеет широкое распространение во многих странах мира [3].

Кобылы во время их первой беременности, а также новорожденные жеребята наиболее восприимчивы к этому заболеванию. Хотя большинство инфекций, как правило, протекают субклинически, аборт могут протекать остро. В некоторых случаях заражение сальмонеллой приводило к артриту, ламиниту и пневмонии. Если не проводить своевременного лечения, инфекция может привести к сепсису и смерти [4,5].

Коневодство основная отрасль животноводства в Казахстане, поэтому переоценить экономический ущерб от абортов кобыл просто невозможно. Для предупреждения распространения данной инфекции, необходима ранняя диагностика, которая позволит своевременно изолировать инфицированных животных и не допустить распространения болезни в табуне, а также дает возможность вовремя начать лечение. При использовании в диагностике иммуноферментного анализа, основным компонентом теста является качественный антиген, который должен соответствовать таким характеристикам как антигенность и специфичность[2].

Цель данной работы заключалась в изучении иммунохимической характеристики антигенов полученных путем ультразвуковой дезинтеграции бактериальной массы *Salmonella abortus equi*

Методы и материалы

В работе использован антиген, полученный методом ультразвуковой дезинтеграции (УЗД) из инактивированной бактериальной массы изолята *Salmonella abortus equi*, выделенного из биологического материала.

Белковый состав УЗД антигена проверяли методом электрофореза в 12 % ПААГ-ДСН на аппарате для вертикального электрофореза. Анализ проводили при силе тока 45 мА на камеру. По завершении процесса гель окрашивали в течение 1 часа в растворе Кумасси R-250 и отмывали в нескольких сменах обесцвечивающего раствора до полного исчезновения фоновой окраски.

Антигенность полученного препарата проверяли с сыворотками крови животных привезенных из хозяйств Акмолинской, Карагандинской и Костанайской области.

Иммуногенность изучали путем пятикратного введения антигена лабораторным животным (белым мышам) внутривентриально в концентрации 25 мкг/мл в течение двух недель. На 17-й день после начала иммунизации отбирали кровь и тестировали методом ИФА на наличие специфических антител.

Для проведения иммуноферментного анализа антиген вносили в концентрации 0,01 мг/мл и инкубировали в течении 14-16 часов при 4°C. Отмывку лунок планшет проводили PBS^{x1} после каждого этапа инкубации. Блокировку свободных участков проводили 0,1% раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA), инкубировали 1 час при 37°C. Исследуемые сыворотки крови вносили в разведении 1:100, титровали на два ряда и инкубировали при 37°C. Антивидовой конъюгат вносили в рабочем разведении 1:5000, режим инкубации как и в предыдущих двух этапах. В качестве субстрата использовали ТМБ, остановку реакций проводили 0,02М раствором серной кислоты. Считывание результатов проводили на спектрофотометре BioSan (Латвия) при длине волны 450 нм.

Результаты исследований

Антиген был получен путем ультразвуковой дезинтеграции инактивированной бактериальной массы. Для этого инактивированную бактериальную массу центрифугировали при 3 000 об./20 мин, супернатант удаляли, а осадок ресуспендировали в 2 мл экстрагирующего буфера и воздействовали на суспензию ультразвуком высокой частоты 20 Гц в течение 30 мин., затем центрифугировали и в качестве антигена использовали надосадочную жидкость.

Концентрацию белка УЗД антигена определяли методом Бредфорд, она оказалась равна 2 мг/мл.

Дальнейшую работу проводили по изучению белкового состава полученного препарата в 12,5 % ПААГ в присутствии ДСН. Результаты электрофоретического анализа представлены на рисунке 1.

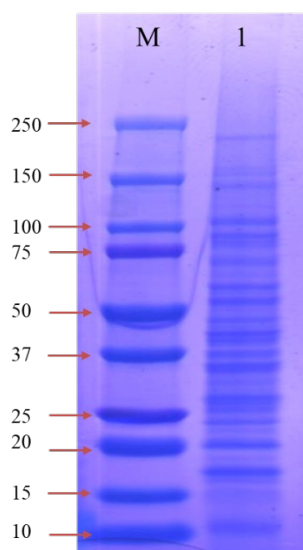


Рисунок 1. Электрофореграмма УЗД антигена
 М-Маркер Precision Plus Protein (Bio-Rad)
 1-УЗД антиген сальмонеллы

Как видно из результатов проведенного анализа в составе полученного антигена присутствует более 25 белковых фракций с молекулярной массой от 10 кДа до 230 кДа.

Иммуногенность полученного препарата проверяли путем иммунизации лабораторных мышей в концентрации 25 мкг/мл, введение антигена проводили 5-тикратно, наличие антител у иммунизированных животных проверяли в непрямом варианте иммуноферментного анализа. Результаты определения специфических антител представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты тестирования иммунизированных мышей

Группа иммунизированных животных	Средний титр антител
Опытная группа	1:38217±0,01
Контрольная группа	PO

Как видно из результатов проведенной работы препарат УЗД имеет высокую иммуногенность, поскольку средние титры антител превышали показатели 1:38000.

Антигенность препарата проверяли с сыворотками крови животных, доставленных из коневодческих хозяйств Акмолинской, Карагандинской и Костанайской областей. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2- Результаты тестирования сывороток крови кобыл методом ИФА

№ п/п	Пробы сывороток из Акмолинской области	Пробы сывороток из Карагандинской области	Пробы сывороток из Костанайской области

	Всего иссле- до- вано	+	-	Всего иссле- дован о	+	-	Всего иссле- дован о	+	-
	24	13	11	26	10	16	11	-	11
Средние показатели оптической плотности реакционной среды									
		Pos	Neg		Pos	Neg		Pos	Neg
		0,751 ±0,04 3	0,145 ±0,00 2		0,712 ±0,03 8	0,102 ±0,00 1		-	0,093 ±0,001

Как видно из таблицы 2, использованный антиген позволяет достоверно выявлять специфические антитела в сыворотках лошадей, так положительные образцы были обнаружены в пробах из хозяйств Акмолинской и Карагандинской областей. Все пробы из Костанайской области оказались отрицательными.

Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что полученный УЗД антиген в своем составе имеет широкий спектр белков и за счет это обладает высокими антигенными свойствами и может быть использован для серологической диагностики сальмонеллёзного аборта кобыл.

Список использованной литературы

- 1 Султанов А.А. Диагностика и профилактика сальмонеллезного аборта кобыл [Текст] / Мусаева А.К., Егорова Н.Н., Досанова А.К // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 12-10. – С. 1883-1887.
- 2 Amavisit P., Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples [Text] / Browning G.F., Lightfoot D., Church S., Anderson G.A., Whithear K.G., Markham P.F. // Veterinary Microbiology. – 2001. – Vol.79. – P. 63-74.
- 3 Wang H. Abortion in donkeys associated with *Salmonella abortus equi* infection [Text] / LiuK.J., SunY.H., CuiL.Y., MengX., JiangG.M., ZhaoF.W., LiJ.J. // Equine Vet J. – 2019. – Vol.6. – P.756-759.
- 4 Hao Wang, Yuanyang Yi, DuishanbayGulimire, Qinggeng Fan, Yan Su. Comparison of immunogenicity between recombinant flagellins C and B of *Salmonella abortus equi* [Text] / Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. – 2020. – Vol.36. – P.57-66.
- 5 Manling Zhu, Characterization of *Salmonella* isolated from donkeys during an abortion storm in China [Text] / Wenqiang Liu, Liang Zhang, Wei Zhang, Pengfei Qi, Hongjun Yang, Yan Zhang, Changfa Wang, Wenhui Wang. // MicrobPathog. – 2021. – Vol.161. – P.105-116.