

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. 195-197.

ОТРАБОТКА СХЕМ ИММУНИЗАЦИИ МЫШЕЙ *BALB/C* РЕКОМБИНАНТНЫМИ АНТИГЕНАМИ *SAMPYLOBACTERJEJUNI*

*Жахина А.А., докторант PhD 2 курс
Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, г. Астана.*

Во многих странах отмечается высокий уровень инфицирования крупного рогатого скота кампилобактериозом [1,2]. Кампилобактериоз относится к зооантропонозам. Для диагностики кампилобактериоза в ветеринарных лабораториях РК основным тестом (согласно руководства МЭБ) является бактериологический, однако, бактериологический анализ требует специальных условий культивирования и занимает значительное время. В последние годы для выявления возбудителя кампилобактериозов используют молекулярно-генетические методы: классическую полимеразно-цепную реакцию (ПЦР) и PCR-realtime. А мультиплексные ПЦР тест-системы, позволяют проводить одновременное выявление и дифференциацию кампилобактерий [3,4]. Однако, применение ПЦР в ветлабораториях затруднительно, из-за высокой стоимости оборудования и праймеров.

С учетом вышеизложенного нами поставлена задача проведения исследований по разработке экспресс-теста для выявления возбудителя кампилобактериоза без использования дорогостоящего оборудования. Иммунохроматографический анализ (ИХА) позволяет проводить иммунохимические взаимодействия компонентов реакции и детектировать образовавшиеся иммунные комплексы в течение 15-20 минут [5]. Для создания таких тестов необходимо изготовление нескольких компонентов, основным из которых является конъюгат (специфические иммуноглобулины, меченые коллоидным золотом), обладающий высокой специфичностью к антигенам возбудителя.

На первом этапе были проведены работы по иммунизации мышей линии *Balb/c* рекомбинантными антигенами МОР32 и ОМР18 для последующего получения моноклональных антител к эпитопам данных антигенов. В качестве опытных животных были отобраны 4 групп линейных мышей *Balb/c* по методу аналогов (одинаковый возраст, вес, физиологическое состояние), по три головы в группе и одна контрольная группа. Каждая группа содержалась в отдельной клетке, условия кормления и содержания были идентичными. Первую и вторую группу мышей иммунизировали в брюшную полость рекомбинантными антигенами в концентрации 25мкг, животным 3 и 4 группы вводили антиген в концентрации 50 мкг. Схема иммунизации приведена в таблице 1.

Таблица 1- Схема иммунизации линейных мышей рекомбинантными антигенами

Этапы иммунизации	АГ и доза	АГ и доза
I этап (1-й день)	OMP18 (25 и 50мкг/мл)+100 мкл ПАФ	МOMP(25 и 50 мкг/мл) +100мклПАФ
II этап (7-й день)	OMP18 (25 и 50 мкг/мл)+100 мкл НАФ	МOMP (25 и 50 мкг/мл) +100мкл НАФ
III этап (11-й день)	OMP18 (25 и 50 мкг/мл)	МOMP (25 и 50 мкг/мл)
IV этап (12-й день)	OMP18 (25 и 50 мкг/мл)	МOMP (25 и 50 мкг/мл)
V этап (13-й день)	OMP18 (25 и 50 мкг/мл)	МOMP (25 и 50 мкг/мл)
17-й день отбор крови для тестирования		

Первые 2 иммунизации проводили внутрибрюшинно с полным и неполным адьювантами Фрейнда, а последующие иммунизации были проведены без добавления адьюванта.

На 17-й день после первой иммунизации собирали образцы сывороток и определяли в них уровень специфических IgG методом иммуноферментного анализа (ИФА). Результаты тестирования сывороток крови мышей приведены в таблице 2.

Таблица 2- Динамика выработки антител в организме иммунизированных животных

Титр антител/ антиген	Титр антител у мышей 1 и 2 группы	Титр антител у мышей 3 и 4 группы	Титр антител у мышей контрольной группы
Рекомбинантный антиген МOMP	1: 6400-1:12800	1:12800 -1:25600	ОР*
Рекомбинантный антиген OMP18	1:6400 -1:12800	1:12800-1:25600	ОР*

Примечание: *ОР-отрицательный результат

Как видно из таблицы 2, во всех группах иммунизированных мышей, наблюдался рост титра специфических антител (IgG). В первой и второй группе мышей, иммунизированных 25 мкг антигена титр IgG составил 1:6400 -1:12800 и соответственно титр антител у 3 и 4 группы составил 1:12800-1:25600. Антительный ответ у мышей изменялся при использовании разных доз антигена (25 мкг и 50 мкг). Данная схема иммунизации позволила получить высокие титры специфических антител к эпитопам использованного рекомбинантного антигена у иммунизированных животных. Кроме этого, было определено, что при использовании

рекомбинантных антигенов в концентрации 50 мкг, титр антител увеличивается почти в 2 раза. Полученные титры иммуноглобулинов высокие и могут быть использованы для выделения иммунных В-лимфоцитов и получения гибридных клеток, продуцирующих моноклональные антитела.

Таким образом, в результате проведенных исследований, отработана схема иммунизации лабораторных животных и оптимальная концентрация антигена для иммунизации.

Список использованной литературы

- 1 Sadkowska-Todys M, Kucharczyk B. Campylobacteriosis in Poland in 2012 [Text] / Przegl Epidemiol. – 2014. – Vol. 68 (2). – P. 239-241.
- 2 Ramonaitė S, Prevalence, quantitative load and genetic diversity of *Campylobacter* spp. in dairy cattle herds in Lithuania [Text] / Rokaitytė A, Tamulevičienė E, Malakauskas A, Alter T, Malakauskas M. / Acta Vet Scand. – 2013. – Vol. – P. 55-87
- 3 Chaban B, Evaluation of a *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* real-time quantitative polymerase chain reaction for direct analysis of bovine preputial samples [Text] / Chu S, Hendrick S, Waldner C, Hill JE // Can J Vet Res. – 2012. – № 76 (3). – P. 166-173.
4. Willoughby K, A multiplex polymerase chain reaction to detect and differentiate *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* and *Campylobacter fetus* -species *venerealis*: use on UK isolates of *C. fetus* and other *Campylobacter* spp [Text] / Nettleton PF, Quirie M, Maley MA, Foster G, Toszeghy M, Newell DG. // J Appl Microbiol. – 2005. – Vol. 99 (4). – P. 758-766.
5. Byzova N. A., Rapid pretreatment-free immunochromatographic assay of chloramphenicol in milk [Text] / Zvereva E. A., Zherdev A. V. Eremin S. A., Dzantiev B. B. // Talanta. – 20. – № 3. – С. 843-848.