

« М.А. Гендельманнның 110 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 19» халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 19», посвященной 110 - летию М.А. Гендельмана» - 2023.- Т.І, Ч.ІІ.- Б.213-215.

БРУЦЕЛЛАЛАРДЫҢ РЕКОМБИНАНТТЫ НӘРУЫЗДАРЫН ИММУНДЫ ФЕРМЕНТТІК ТӘСІЛДЕ ҚОЛДАНУ

ӘОЖ: 591.2:628.513(045)

*Жармаханова А.С., 1-курс магистранты
С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу
университеті, Астана қ.*

Кіріспе. Бруцеллез — адам мен жануарларға ортақ жұқпалы ауру. Аурудың Арктика мен Жаңа Зеландия және Отты жер аралдары кеңістігінде таралуы оның қоздырғышының әртүрлі географиялық-климаттық жағдайға жақсы бейімделгенін көрсетеді. Жерорта теңізі жағалауындағы елдерде, Шығыс Еуропада, Оңтүстік және Орталық Америкада, Африкада, Орталық және Оңтүстік Азияда, Кавказда, Араб түбегінде және Таяу Шығыста бруцеллез ең кең таралған індет болып отыр [1]. Өкінішке орай, Қазақстан Республикасы (ҚР) бруцеллез ауру бойынша эпидемиологиялық жағдайы өте нашар 25 елдердің қатарына еніп отыр [2].

Адамдар бруцеллезді ауру малдан алынған тағам өнімдерін тұтынғанда немесе жануарларды күтіп-бағу, емдеу кезінде жұқтырып алады. Қазіргі кезде ҚР 2383 ауылдық аймақтарының 1513-інде (63,4%) жануарлардың бруцеллезі тіркелген. Елімізде 2017-2019 жылдары 111 мыңнан астам сиырға бруцеллез диагнозы қойылып, аурудың мал арасында таралуының орташа деңгейі 0,45%-ға тең болды. Қойлардың бруцеллезбен ауыру динамикасы кейінгі жылдары біршама төмендеп, бүгінгі таңда 0,07%-ды құрап отыр. Аталмыш кезеңде 52 мыңға жуық қой бруцеллезге шалдығу себебінен пышаққа ілінді [3].

Бруцеллезбен жұқтырылған жануарларды дер кезінде анықтау - аурумен күресудің негізгі жолы болып табылады. Қазіргі таңда осы мақсатта ҚР дәстүрлі серологиялық реакциялар, атап айтсақ роз-бенгал сынамасы (РБС), комплементті байланыстыру реакциясы (КБР) және агглютинация реакциясы (АР) қолданылады. Бұл серологиялық реакциялар, сонымен қатар коммерциялық иммунды ферментті талдау (ИФТ) жиынтықтары, S-пішініндегі бруцелла жасушаларының липополисахаридті (ЛПС) антигеніне бағытталған антиденелерді анықтауға негізделген. Осы себептен классикалық серологиялық реакциялар және нарықтағы ИФТ-жиынтықтары ауруды балау кезінде тек бруцеллаларға ғана емес, сонымен қатар басқа да туыстас грам теріс бактериялардың (*Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella* spp. және *Escherichia coli*) ЛПС-теріне қарсы түзілген антиденелерді анықтап, бруцеллез ауруына жалған нәтижелер беруі әбден мүмкін. Оған мысал ретінде бруцеллалардың ЛПС-теріне негізделген коммерциялық ИФТ

жиынтықтарын еліміздің ветеринария практикасына енгізу жұмыстарының (2008-2013 жж) сәтсіздікпен аяқталуын айтуға болады. Аталмыш жылдары бруцеллезге ИФТ бойынша оң нәтиже көрсеткен мал саны 7 есеге дейін өскен еді [4]. Бұл оқиға ИФТ - сезімталдығы жоғары әдістердің бірі ретінде, қоздырғышқа телімді антиген болған жағдайда ғана бруцеллездің серодиагностикасында қолданыс таба алатындығын дәлелдеп берді. Сондықтан, бруцеллез қоздырғышына тән антигенді іздестіру және оны ИФТ диагностикалық құндылығын анықтау – ҚР үшін ғана емес, осы індеттен экономикалық және әлеуметтік зардап шегіп отырған басқа да елдердің ветеринария ғылымдарының өзекті мәселелерінің біріне айналып отыр. Соңғы кезде *Brucella*-ның сыртқы мембранасының нәруыздары (СМН) бруцеллез диагностикасын жетілдірумен шұғылданып жүрген зерттеушілердің назарын аударып отыр [5-7].

Жұмыстың мақсаты мен міндеттері. Ғылыми жұмыстың мақсаты - молекулалық салмақтары 19кДа (СМН19), 25кДа (СМН25) және 31кДа (СМН31) болатын *Brucella*-ның рекомбинантты нәруыздарының қой бруцеллезінің серологиялық балауында қолдану мүмкіндігін анықтау.

Көрсетілген мақсатқа жету мына келесі міндеттер алға қойылды: 1) *Brucella*-ның СМН19, СМН25 және СМН31 нәруыздарына негізделген ИФТ-ның телімділігін, сезімталдылығын және дәлдігін қой қан сарысуларын қолдана отыра анықтау; 2) рекомбинантты СМН-ына негізделген ИФТ-дың құндылығын қой бруцеллезінің диагностикасында қолданылатын дәстүрлі серологиялық реакциялармен салыстыра отыра анықтау; 3) ИФТ-ында қой бруцеллезін диагностикалауға жарамды нәруызды анықтау.

Материалдар мен тәсілдер. Зерттеуде А.К. Булашев және әріптестері (2018, 2018а) алған *Brucella*-ның СМН19 [8], СМН25 және СМН31 [9] атты рекомбинантты нәруыздары пайдаланылды.

ИФТ-ында 213 қой қан сарысуының үлгілері зертелінді. Олардың ішінде РБС, КБР және коммерциялық ИФТ-жиынтығы (ELISA kit INgesim *Brucella* Compas 2.0, Испания) бойынша 88 қан сарысулары бруцеллезге теріс нәтиже көрсеткен болатын. Бұл сарысулар бруцеллезге қарсы вакцинацияланбаған және індеттен сау қойлардан алынған болатын. Бруцеллезге шалдыққан отардағы қойлардан екі (КБР және ИФТ) немесе үш (РБС, КБР және ИФТ) серологиялық реакциялардың көрсеткіштері бойынша бруцеллезге оң нәтижелі 50 қан сарысу үлгісі алынды, ал 75 қан сарысуы - індеттің жаңа ошағындағы қойларға тиесілі болды. Қан сарысуларға серологиялық зерттеулерге дейінгі аралықта минус 20°C температурада сақталды.

Роз-Бенгал сынамасында қан сарысулары 1:2 – 1:32 сұйылтынымдарында Мемлекетаралық стандартқа (MEMST 34105-2017) сәйкес тексерілді.

Қойдың қан сарысуын жанама ИФТ-ында (ж-ИФТ) зерттеу үшін полистирол шұңқыршақтары (Thermo Fisher Scientific) *Brucella*-ның бикарбонат буферіндегі 1,0 мкг/мл СМН19, СМН25 және СМН31 антигендерімен сенсбилизацияланды. Қан сарысу үлгілері 1:100

сұйылтынымдарында зерттелінді. Теріс бақылау қан сарысуының 1:100 сұйылтынымындағы оптикалық тығыздығынан (ОТ) екі немесе одан да жоғары көрсеткіші бар қан сарысулары оң үлгілер ретінде танылды.

Зерттеу нәтижелері. Қойлардың қан сарысу үлгілері РБС-ында және рекомбинантты нәруыздарға негізделген ИФТ-ында тексерілді. СМН19, СМН25 және СМН31 антигендері ж-ИФТ-ына жоғары телімділікті (99-100%) қамтамасыз ете алды, алайда оның сезімталдығы қолданылған нәруыз түріне байланысты айтарлықтай өзгеріп отырды. Иммунды ферменттік талдау варианттарының салыстырмалы жоғары сезімталдығы мен дәлдігі ж-ИФТ-ында СМН19+25 антигенін пайдаланғанда байқалды (сәйкесінше: 72-76% және 89-91%). Айта кететін жайт, ж-ИФТ/СМН25+31 варианты қойларды бруцеллезге сынау кезінде де төмен сезімталдықпен (20-22%) сипатталды, дегенмен сынауға алынған сарысу антиденелерінің оптикалық тығыздығының (ОТс) бақылау сарысуларының оптикалық тығыздығына (ОТб) қатынасы бойынша (ОТс/ОТб) анықталған аффиндігі басқа нәруыздарға қарағанда жоғары болды.

Зерттеулерімізде қолданылған ж-ИФТ варианттары 26 қойдың (35%) сарысуын бруцеллезге тексеру кезінде максималды сезімталдықты көрсетті. Бұл қойлардың қанындағы антиденелер РБС-ында сарысу үлгілерінің 1:16 және одан да жоғары сұйылтынымдарында анықталды. Дегенмен, ж-ИФТ қойылымдарының телімділіктері РБС-ымен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды. ж-ИФТ/СМН19+31 қойылымы басқа екі иммундық талдау варианттарымен салыстырғанда біршама жоғары телімділік көрсетті (70%), алайда оның сезімталдылығы ж-ИФТ/СМН19+25-пен салыстырғанда төменірек болды (сәйкесінше: 86% және 96%). Ал, СМН25+31 қойдың қан сарысуын бруцеллезге тексеру кезінде басқа екі антигенмен салыстырғанда ИФТ-ына жеткілікті телімділікті (40%) бере алмады.

Қорытынды. Бруцелланың молекулалық салмақтары 19 кДа (СМН19), 25 кДа (СМН25) және 31 кДа (СМН31) болатын рекомбинантты нәруыздарын ж-ИФТ-ында қоздырғышқа телімді антиденелерді анықтау үшін қолдануға болады. Алайда, қойларды бруцеллезге серологиялық тексеріс кезінде ж-ИФТ-ында антиген ретінде СМН19 және СМН25-ті қолданған жөн. Бұл рекомбинантты нәруыздар ИФТ-дың жоғары дәлділігін қамтамасыз ете алады.

Әдебиеттер тізімі

1 Cardoso P.G. Brucella spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system[Текст]/ Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. // Microb. Cell. Fact. – 2006. – Vol. 5, – P. -13.

2 Pappas G. The new global map of human brucellosis[Текст]/ Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis, N., Christou L., Tsianos E.V., // Lancet Infect. – 2006. – Vol. 6, – P.- 91-99.

3 Научное обеспечение ветеринарного благополучия и пищевой безопасности: Отчет о НИР (заключительный) [Текст]: Казахский научно-

исследовательский ветеринарный институт: руководитель программы Султанов А.А.; исполнитель Тургенбаев К.А. Алматы, – 2020. – С. 431 – № Госрегистрации: 0118РК01221. – Инв. № 0218РК01084.

4 Ешмухаметов А.Е., Бейсембаев К.К., Асауова З.С. и Султанова А.О. Мониторинг и анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу крупного рогатого скота в Республике Казахстан за 2007-2015 годы [Текст]/ Вестник Костанайского государственного университета им. А. Байтурсынова. – 2016. – № 2. – С. -36-41.

5 Bulashev A. Use of recombinant *Brucella* outer membrane proteins 19, 25, and 31 for serodiagnosis of bovine brucellosis[Текст]/ Bulashev A., Akibekov O., Syzdykova A., Suranshiyev Z., Ingirbay B. // Vet. World.-2020.- Vol. 13, № 7.- P.- 1439-1440.

6 Bai Q.Q. Comparative analysis of the main outer membrane proteins of *Brucella* in the diagnosis of brucellosis [Текст]/ Bai Q.Q., Li H., Wu X.L., et al. // Biochem. and Biophysical R. Communications.- 2021.-Vol. 560.- P. -127-130.

7 Ahmed I.M. Serological diagnostic potential of recombinant outer membrane proteins (rOMPs) from *Brucella melitensis* in mouse model using indirect enzyme-linked immunosorbent assay[Текст]/ Ahmed I.M., Khairani-Bejo S., Hassan L., et al. //BMC Vet. R.-2015.- Vol. 11.-P. -2-10.

8 Булашев А.К. Получение штамма продуцента рекомбинантного БВМ19 *Brucella abortus* и изучение его антигенности[Текст]/ Булашев А.К., Турсунов К.Т., Каирова Ж.К., Сыздыкова А//Вестник КазАТУ им.С.Сейфуллина.- 2018.-№3(98).-С.-117-128.

9 Bulashev A. Immunogenicity and antigenicity of *Brucella* recombinant outer membrane proteins [Текст]/ Bulashev A., Jakubowski T., Tursunov K., Kiyani V. and Zhumalin A. // Vet. Med. Zoot., Vol. -2018a.- Vol.76(98).-P. -17-24.