

С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университетінің Ғылым жаршысы (пәнаралық) = Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). - 2022. - №3 (114). –Ч.2. - С. 111-119

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОГО АБОРТА ЛОШАДЕЙ

Боровиков Сергей Николаевич

Кандидат биологических наук, и.о.профессора
Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина
г. Нур-Султан, Казахстан
E-mail: nicsb_katu@mail.ru

Сыздыкова Альфия Сафиоллаевна

Магистр технических наук
Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина
г. Нур-Султан, Казахстан
E-mail: halik.kz@mail.ru

Аннотация

В статье описаны результаты исследований по разработке протоколов постановки иммуноферментного анализа (ИФА) для серологической диагностики сальмонеллезного аборта кобыл. Для сенсibilизации носителя использовали антигены, полученные методом ультразвуковой дезинтеграции и белки внешней мембраны (БВМ) *Salmonella enterica abortus egui*. На основе использования полученных антигенов были разработаны протоколы постановки непрямого варианта ИФА на 96-луночном планшете. В результате были определены оптимальные параметры проведения реакции и получены положительные результаты. Для определения эффективности предлагаемых вариантов постановки ИФА были проведены сравнительные исследования с применением коммерческого антигена. По результатам опыта отмечена корреляция данных полученных с помощью сравниваемых тестов. Разработанный вариант проведения иммуноферментного анализа на основе применения антигена БВМ может быть предложен для внедрения в ветеринарную практику, поскольку сегодня аналогичный отечественный тест отсутствует.

Ключевые слова: *Salmonella enterica*; сальмонеллезный аборт кобыл; антигены; специфические антитела; титр антител; диагностика; иммуноферментный анализ.

Введение

Сальмонеллезный аборт кобыл – инфекционная болезнь, вызываемая возбудителем *Salmonella abortus equi*, сопровождающаяся преждевременными родами (абортами) и рождением нежизнеспособного плода. Экономический ущерб складывается из потери воспроизводительной способности кономаток, недополучения приплода, снижения продуктивности кобыл и затрат на ветеринарные препараты и дезинфекцию. Случаи абортов у лошадей, связанных с *Salmonella abortus equi*, были зарегистрированы в Азии и Африке, а также спорадически в Европе, Соединенных Штатах и Аргентине в том числе в Казахстане [1,2,3]. Коневодство в Республике Казахстан является важнейшей отраслью животноводства, в настоящее время численность поголовья лошадей в стране составляет около двух миллионов голов. По данным статистики, в разные годы аборты кобыл достигали от 6 до 30 % от общего поголовья, из них свыше 50% были сальмонеллезной этиологии [3]. К данной инфекции восприимчивы лошади, но клинически проявляется чаще у жеребых кобыл, причем, большинство абортов регистрируют у молодых животных. Болеют сальмонеллезом также новорожденные жеребята [4], бессимптомная инфекция отмечена у жеребцов. Есть сообщения о регистрации этого заболевания у ослов [5]. Источником возбудителя

инфекции служат абортировавшие кобылы, которые выделяют с плодовыми оболочками, околоплодными водами и истечением из влагалища большое количество бактерий, а также бактерионосители. Выделение бактерий может продолжаться до 60 дней. Факторами передачи возбудителя служат корма, вода, подстилка, предметы ухода за лошадьми. Заражение здоровых животных чаще всего происходит алиментарным путем. Возможно заражение и при случке. Проникнув в организм лошади, возбудитель вызывает воспаление плодовых оболочек, что приводит к гибели плода. Если процесс протекает остро, плод не успевает инфицироваться. При более медленном развитии инфекционного процесса сальмонеллы проникают в плодовые воды, а на 4-м месяце жеребости и позднее - в плод. Продукты жизнедеятельности возбудителя и его токсины вызывают сокращение матки и изгнание плода [6].

Важнейшими мерами развития коневодческого направления животноводства в Республике является обеспечение здоровья животных и повышение эффективности диагностики заболеваний. Для профилактики сальмонеллезного аборта кобыл применяется вакцинация жеребых кобыл вакциной на основе аттенуированного штамма *Salmonella abortus equi* E-841 (производитель ТОО «КазНИВИ»). Однако, в силу различных причин, не все поголовье вакцинируется,

кроме того, РВЛ не предусматриваются диагностические мероприятия по данной инфекции.

Основным методом диагностики является бактериологический, только выделение возбудителя дает право устанавливать диагноз на сальмонеллезный аборт. Согласно руководства МЭБ, идентификация самого возбудителя является основным предписывающим тестом [7]. Однако, бактериологический метод недостаточно чувствителен, длителен по времени и сильно зависит от состояния исследуемого материала. Также МЭБ для выявления и дифференциации возбудителя сальмонеллезного аборта рекомендует пользоваться

Материалы и методы

В работе использованы два вида антигенов, полученных в лаборатории иммунохимии Научно-исследовательской платформы сельскохозяйственной биотехнологии КазАТУ им.С.Сейфуллина: ультразвуковой дезинтеграт (УЗД) и белки внешней мембраны (БВМ) из аттенуированного вакцинного штамма *Salmonella abortus equi* E-841 (ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»).

Отбор образцов материала осуществляли в соответствии с «Правилами отбора проб перемещаемых (перевозимых) объектов и биологического материала» (Приказ Министра

ПЦР [8,9]. Однако, применение ПЦР в ветлабораториях затруднительно, из-за высокой стоимости оборудования и высокой цены тест-систем (праймеров).

Иммуноферментный анализ (ИФА) может быть использован для серологической диагностики этой инфекции, но при этом большое значение имеет состав и чистота антигена [10,11].

Целью настоящей работы являлась разработка протокола постановки иммуноферментного анализа на основе полученных антигенов *Salmonella abortus equi*.

сельского хозяйства Республики Казахстан от 30 апреля 2015 года № 7-1/393). В качестве материала отбирали образцы: кусочки паренхиматозных органов аборт плодов, мазки из влагалища кобыл, образцы фекалий, кровь. Пробы транспортировали в лабораторию с соблюдением холодной цепи.

Исследование сыворотки крови проводили методом ИФА. Для проведения ИФА планшет сенсibilизировали антигеном в концентрации 0,01 мг/мл и инкубировали в течение 14-16 часов при 4°C. Отмывку лунок планшет проводили фосфатно-солевым буфером (ФСБ) после каждого этапа инкубации. Блокировку свободных участков

проводили 0,1% раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА), инкубировали 1 час при 37°C. Исследуемые сыворотки крови вносили в двух разведениях 1:100 и 1:200 и инкубировали при 37°C. Антивидовой конъюгат *Antihorse* вносили в рабочем разведении 1:5 000, режим инкубации как и в предыдущих двух этапах. В качестве субстрата использовали ТМБ, остановку реакций проводили 0,02 М раствором

Результаты

Отбор проб биологического материала осуществляли в коневодческих хозяйствах Акмолинской, Карагандинской и Костанайской области. Биологический материал (фекалии, моча, влагалищная слизь) отбирали у абортировавших животных и животных, которые находились в тесном контакте. Кровь отбирали из яремной вены лошадей в вакутейнеры, содержащие коагулянты для получения сыворотки крови.

В результате было отобрано и доставлено в лабораторию иммунохимии Научно-исследовательской платформы сельскохозяйственной биотехнологии КАТУ им. С.Сейфуллина 49 проб сывороток крови из Карагандинской области, 51 проб из Акмолинской области и 147 проб из Костанайской области. Сыворотки крови отбирали и аликвотили в трех повторностях по 500 мкл и подписывали порядковыми номерами в соответствии с индивидуальным номером животного, 2 части замораживали, 1 часть

серной кислоты (стоп-реагент). Считывание результатов проводили на спектрофотометре *BioSan* (Китай) при длине волны 450 нм.

Коммерческий липополисахаридный антиген (ЛПС) *Salmonella spp.* производства компании *Prio CHECK* использовали согласно инструкции.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась в программе *Microsoft Excel*.

использовали для проведения ИФА.

Для исследования методом ИФА отработаны протоколы постановки с использованием в качестве антигена УЗД и БВМ, полученные из вакцинного штамма *Salmonella abortus equi*. Для создания данного протокола были оптимизированы условия и соотношения компонентов, в результате которых была определена схема проведения непрямого ИФА.

Непрямой вариант ИФА проводили на 96 луночном планшете для иммунологических реакций:

1. Лунки планшета сенсibilizировали антигеном в концентрации 10 мкг/мл в (ФСБ) с рН 7,0-7,5 внося в каждую лунку по 100 мкл. Инкубация при температуре – 4-8°C 16 часов. Отмывка на аппарате *Microplate Washer Allsheng APW-100* (Китай). В качестве промывочного буфера использовали ФСБ+Tween-20.

2. Блокировка проводилась с применением 1% (БСА), 1 час при температуре 37°C. Отмывка.

3. Внесение исследуемых сывороток крови в разведении 1:100 и титровали до разведения 1:800. Инкубация в термостате в течение 1 часа при температуре 37°C. В качестве положительного контроля использовали сыворотку крови кобылы с подтвержденным методом ПЦР диагнозом сальмонеллезный аборт, любезно предоставленную РГП на ПХВ «НРЦВ», в качестве отрицательного контроля использовали негативную сыворотку лошади. Отмывка.

4. Антивидовой конъюгат *Antihorse* вносили в рабочем разведении 1:5000. Инкубация в термостате в течение 1 часа при

температуре 37 °С. В качестве субстрата использовали ТМБ.

5. Реакцию после проявления останавливали стоп-реагентом.

6. Определение оптической плотности проводили с помощью спектрофотометра *BioSan* при длине волны 450 нм.

В первом случае, при исследовании образцов сыворотки крови кобыл с подозрением на сальмонеллезный аборт из различных хозяйств, был использован антиген УЗД, полученный методом ультразвуковой дезинтеграции. Сыворотки крови вносили в разведении 1:100. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1- 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 исследовано	+	-	Всего исследовано	+	-	Всего исследовано	+	-
	24	13	11	26	10	16	11	-	11
Средние показатели оптической плотности реакционной среды									
		Положительные	Отрицательные		Положительные	Отрицательные		Положительные	Отрицательные
		0,751 ±0,043	0,145 ±0,002		0,712 ±0,038	0,102 ±0,001		-	0,093 ±0,001

Как видно из таблицы 1, специфические антитела были выявлены в 13 пробах из хозяйствующих субъектов Акмолинской области и 10 пробах из Карагандинской области. При анализе полученных данных было установлено, что средние показатели оптической плотности реакционной среды положительных образцов в реакции ИФА отличались незначительно. В образцах сыворотки крови из

Костанайской области антитела не выявили.

Таким образом, была подтверждена возможность проведения ИФА на основе использования самостоятельно полученных антигенов УЗД для серологической диагностики сальмонеллезного аборта лошадей.

Во втором случае, при исследовании образцов сыворотки крови кобыл с подозрением на сальмонеллезный аборт, был

использован самостоятельно полученный антиген БВМ - белки внешней мембраны бактерий *Salmonella abortus equi*. Сыворотки крови вносили в разведении 1:100, без дальнейшей титрации. В качестве исследуемого материала было использовано 12 образцов сыворотки из хозяйств Карагандинской, 20 из Костанайской, 20 проб от кобыл из Зерендинского района и 20 из других хозяйств Акмолинской области. В качестве позитивного

контроля использовали сыворотку крови кобылы с подтвержденным методом ПЦР диагнозом сальмонеллезный аборт. Для подтверждения эффективности разработанного протокола непрямого ИФА на основе антигена БВМ для выявления специфических антител, точно в такой же последовательности и с аналогичными сыворотками провели постановку ИФА с коммерческим антигеном (схема на рисунке 2).

Таблица 2 – Результаты тестирования сывороток крови на основе антигена БВМ

450нм	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,028	0,103	0,035	0,050	0,050	0,035	0,013	0,009	0,013	0,016	0,017	0,095
B	0,886	0,097	0,059	0,027	0,028	0,018	0,019	0,005	0,004	0,008	0,017	0,018
C	0,827	0,038	0,072	0,043	0,042	0,036	0,043	0,052	0,010	0,069	0,019	0,043
D	0,035	0,301	0,068	0,036	0,030	0,026	0,018	0,009	0,029	0,022	0,064	0,052
E	0,057	0,599	0,035	0,099	0,045	0,020	0,021	0,026	0,069	0,024	0,117	0,000
F	0,100	0,079	0,061	0,032	0,791	0,390	0,572	0,012	0,046	0,021	0,092	0,045
G	0,076	0,104	0,037	0,024	0,059	0,029	0,018	0,078	0,045	0,030	0,012	0,778
H	0,070	0,152	0,025	0,071	0,024	0,023	0,020	0,045	0,086	0,014	0,029	0,723

Таблица 3 – Результаты тестирования сывороток крови на основе коммерческого антигена

450нм	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,014	0,048	0,109	0,124	0,056	0,044	0,045	0,025	0,024	0,039	0,055	0,060
B	1,267	0,097	0,034	0,044	0,035	0,079	0,160	0,041	0,041	0,020	0,031	0,025
C	1,556	0,121	0,230	0,141	0,070	0,068	0,508	0,120	0,052	0,086	0,034	0,065
D	0,041	0,410	0,156	0,051	0,157	0,049	0,102	0,037	0,071	0,101	0,032	0,069
E	0,059	0,739	0,067	0,068	0,115	0,059	0,110	0,108	0,070	0,093	0,059	0,048
F	0,042	0,116	0,081	0,052	0,245	0,308	0,545	0,103	0,042	0,037	0,060	0,020
G	0,082	0,101	0,074	0,101	0,713	0,043	0,056	0,045	0,022	0,031	0,049	1,478
H	0,045	0,062	0,061	0,073	0,067	0,071	0,043	0,245	0,046	0,024	0,041	1,574

Таблица 4 – Схема внесения на планшет сывороток крови кобыл для опытов

450нм	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	neg	19	24	4	13	25	12	5	1	9	23	15
B	pos	21	25	5	22	28	14	12	2	K-	22	14
C	pos	22	26	7	15	29	21	30	3	10	21	13
D	4	43	27	12	19	30	22	33	4	11	20	12
E	6	46	33	27	20	1	20	15	5	27	19	neg
F	8	5	31	33	21	4	24	1	6	26	18	neg
G	17	9	32	1	23	8	25	31	7	25	17	pos
H	18	13	без сыв	9	24	11	32	29	8	24	16	pos

Примечание:

	Карагандинская область
	Костанайская область
	Зерендинский район Акмолинской области
	Другие районы Акмолинской области

Как видно из таблицы 2, при использовании БВМ антигена была зафиксирована положительная реакция с пробами сывороток в 6 случаях. Аналогичная реакция с коммерческим антигеном была выявлена в 9 случаях, т.е. на 3 пробы больше. При этом отмечена высокая корреляция результатов, поскольку в пяти случаях было полное совпадение: сыворотки от животных с номерами 43, 46, 21, 4 и 24 были положительными в обоих случаях.

Обсуждение

В настоящее время сальмонеллезный аборт кобыл наносит значительный экономический ущерб, как крупным коневладельцам, так и частным хозяйствам Республики Казахстан. Для профилактики сальмонеллезного аборта кобыл применяется вакцинация жеребых кобыл вакциной на основе аттенуированного штамма *Salmonella abortus equi* E-841. Однако, в тех хозяйствах, где по каким-то причинам вакцинацию не проводили, часто наблюдаются аборты кобыл, с большой вероятностью сальмонеллезной этиологии. В целом, на наш взгляд, этой болезни не уделяется должного внимания. Так, например, в плане исследований поголовья лошадей в РК на сальмонеллезный аборт приобретение диагностических препаратов в РВЛ не предусмотрено.

Несмотря на прилагаемые усилия, нам не удалось приобрести

Таким образом, удалось показать, что полученный антиген БВМ может быть использован для постановки иммуноферментного анализа с целью серологической диагностики сальмонеллезного аборта кобыл. Тот факт, что при использовании коммерческого антигена было выявлено больше положительных проб, можно объяснить его химическим составом, он описан как липолисахаридный антиген.

коммерческий набор ИФА для серологической диагностики сальмонеллезного аборта кобыл импортного производства. В нашей стране таких работ также не проводилось, хотя актуальность такого теста весьма высокая. Поэтому нами предпринята попытка самостоятельно разработать протоколы постановки иммуноферментного анализа для прижизненной диагностики этой инфекции. Для этого были использованы полученные антигены: антиген УЗД и белки внешней мембраны из бактерий штамма *Salmonella abortus equi*. Из литературных данных хорошо известно, что антиген, полученный путем ультразвуковой дезинтеграции, сохраняет нативность их химической структуры, но содержит большое число белковых и биополимерных комплексов, что снижает их специфичность [14]. Липополисахарид - термостабильный компонент

наружной части клеточной мембраны всех грамотрицательных микроорганизмов, поэтому высока вероятность перекрестных реакций. В тоже время белки внешней мембраны представляют собой весьма ценный компонент клеточной стенки, состоящий из диагностически важных белков,

Заключение

В результате проведенных исследований показана возможность использования полученных антигенов УЗД и белков внешней мембраны из аттенуированного вакцинного штамма *Salmonella abortus equi E-841* в иммуноферментном анализе для серологической диагностики сальмонеллезного аборта кобыл. Разработаны протоколы и определены оптимальные условия проведения непрямого варианта ИФА.

Для определения эффективности ИФА были проведены испытания в сравнительном аспекте на основе использования коммерческого антигена и белков внешней мембраны. При использовании БВМ антигена была зафиксирована положительная реакция с пробами сывороток в 6 случаях. В опыте с коммерческим антигеном было выявлено положительных проб на 3 больше.

которые обладают необходимой специфичностью и могут быть использованы в тестах для серологической диагностики [15]. Исходя из вышеперечисленных данных, при разработке протокола проведения ИФА целесообразно в качестве антигенов использовать белки внешней мембраны.

При этом отмечена высокая корреляция результатов, поскольку в пяти случаях было полное совпадение: сыворотки от животных с номерами 43, 46, 21,4 и 24 были положительными в обоих случаях. Тот факт, что при использовании коммерческого антигена было выявлено больше положительных проб, можно объяснить его химическим составом (указан как ЛПС антиген).

Таким образом, удалось показать, что именно антиген БВМ целесообразно использовать для постановки иммуноферментного анализа. Учитывая вышеизложенное, можно рекомендовать разработанный протокол проведения иммуноферментного анализа на основе антигена БВМ, для серологической диагностики сальмонеллезного аборта кобыл в ветеринарной практике.

Информация о финансировании

Данное исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (№АР09259983).

Список литературы

- 1 Bustos C.P., Moroni M., Caffer M.I., Ivanissevich A., Herrera M., Moreira A.R., Guida N., Chacana P. Genotypic diversity of *Salmonella ser. Abortus equi* isolates from Argentina // *Equine Vet J.* – 2020. – Vol.52. – P. 98-103.
- 2 Mudit Chandra and Gurpreet Kaur An Update on Equine Salmonellosis // *EC Veterinary Science.* – 2018. – Vol.35. – P. 348-354.
- 3 Султанов А.А., Мусаева А.К., Егорова Н.Н., Досанова А.К. Диагностика и профилактика сальмонеллезного аборта кобыл // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2015. – № 12-10. – С. 1883-1887
- 4 Grandolfo E., Parisi A., Ricci A., Lorusso E., de Siena R., Trotta A., Buonavoglia D., Martella V., Corrente M. High mortality in foals associated with *Salmonella enterica subsp. Enteric Abortus equi* infection in Italy // *J Vet Diagn Invest.* – 2018. – Vol.30. – P.483-485.
- 5 Wang H., Liu K.J., Sun Y.H., Cui L.Y., Meng X., Jiang G.M., Zhao F.W., Li J.J. Abortion in donkeys associated with *Salmonella abortus equi* infection // *Equine Vet J.* – 2019. – Vol.51. – P. 756-759.
- 6 Робинсон Э. Н., Уилсон М.Р. Болезни лошадей. Современные методы лечения [перевод с англ.] / Под ред. Корнеевой О. А. – Издание М.: Аквариум-Принт, -2007 . -1000 с.
- 7 URL:<http://www.oie.int/>
- 8 Amavisit P., Browning G.F., Lightfoot D., Church S., Anderson G.A., Whithear K.G., Markham P.F. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples // *Veterinary Microbiology.* – 2001. – Vol.79. – P.63-74.
- 9 Kurowski P. B., Josie BS, Traub-Dargatz L., Paul M.S, Morley S., Gentry-Weeks C.R. Detection of *Salmonella* spp in fecal specimens by use of real-time polymerase chain reaction assay // *Am Vet Med Assoc.* – 2002. – Vol. 63, №.9. – P. 1265-1268.
- 10 Pelton J.A., Dilling G. W., Smith B.P., Jang S. Comparison of a Commercial Antigen-Capture ELISA with Enrichment Culture for Detection of *Salmonella* from Fecal Samples // *J Vet Diagn Invest.* – 1994. Vol.6. – P. 501-502.
- 11 Gall D., Nielsen K., Bermudez R.M., Muñoz del Real M.C., Halbert G., Groulx R., Moreno F., Chow E.Y., Checkley S.L., Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detecting equine serum antibodies to the lipopolysaccharide of *Salmonella abortus equi* // *Research in Veterinary Science.* – 2006. – Vol.8, №2. – P.7-215.
- 12 Li Q., Zhu Y., Yin K., Xu L., Yin C., Li Y., Ren J., Yuan Y., Jiao X., Purification of recombinant IPA J to develop an indirect ELISA-based method for detecting *Salmonella enteric serovar Pullorum* infections in chickens // *BMC Vet Res.* – 2019. – Vol.5. – P.1-3.
- 13 Burgess B.A., Noyes N.R., Bolte D.S., Hyatt D.R., van Metre D.C., Morley P.S. Rapid *Salmonella* detection in experimentally inoculated equine faecal

and veterinary hospital environmental samples using commercially available lateral flow immunoassays // *Equine Vet J.* – 2015. – Vol.47. – P.119-22.

14 Сова В.В., Кусайкин М.И. Выделение и очистка белков. Методическое пособие по курсу «Химия и биохимия белков и ферментов» // Методическое пособие к практическим занятиям по очистке белков. – Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, -2006. – 42 с.

15 Булашев А.К., Сураншиев Ж.А., Жумалин А.Х., Турсунов К.А. Антигенность белков внешней мембраны бруцелл // *Биотехнология. Теория и практика.* – 2016. – №1. – С. 20- 26.

References

1 Bustos C.P., Moroni M., Caffer M.I., Ivanissevich A., Herrera M., Moreira A.R., Guida N., Chacana P. Genotypic diversity of *Salmonella ser abortus equi* isolates from Argentina // *Equine Vet J.* – 2020. – Vol.52. – P. 98-103.

2 Mudit Chandra and Gurpreet Kaur An Update on Equine Salmonellosis // *EC Veterinary Science.* – 2018. – Vol.35. – P. 348-354.

3 Sultanov A.A., Musayeva A. K., Egorova N.N., Dosanova A.K., Diagnostika i profilaktika salmonelleznogo aborta kobyl // *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy.* – 2015. – № 12. – S. 1883-1887

4 Grandolfo E., Parisi A., Ricci A., Lorusso E., de Siena R., Trotta A., Buonavoglia D., Martella V., Corrente M. High mortality in foals associated with *Salmonella enterica subsp. Enteric Abortus equi* infection in Italy // *J Vet Diagn Invest.* – 2018. – Vol.30. – P.483-485.

5 Wang H., Liu K.J., Sun Y.H., Cui L.Y., Meng X., Jiang G.M., Zhao F.W., Li J.J. Abortion in donkeys associated with *Salmonella abortus equi* infection // *Equine Vet J.* – 2019. – Vol.51. – P. 756-759.

6 Robinson E. N. Uilson M.R. Bolezni loshadey. Sovremennyye metody lecheniya [perevod s ang.] / pod red. Korneyevoy O. A. – Izdaniye M.: Akvarium-Print, -2007. – 1000s.

7 Amavisit P., Browning G.F., Lightfoot D., Church S., Anderson G.A., Whithear K.G., Markham P.F. Rapid PCR detection of *Salmonella* in horse faecal samples // *Veterinary Microbiology.* – 2001. – Vol.79. – P.63-74.

8 Kurowski P.B., Josie B.S., Traub-Dargatz L., Paul M.S., Morley S., Gentry-Weeks C.R. Detection of *Salmonella spp.* in fecal specimens by use of real-time polymerase chain reaction assay // *Am Vet Med Assoc.* – 2002. – Vol. 63, №.9. – P. 1265-1268.

9 Pelton J.A., Dilling G.W., Smith B.P., Jang S. Comparison of a Commercial Antigen-Capture ELISA with Enrichment Culture for Detection of *Salmonella* from Fecal Samples // *J Vet Diagn Invest.* – 1994. – Vol.6. – P. 501-502.

10 Gall D., Nielsen K., Bermudez R.M., Muñoz del Real M.C., Halbert G., Groulx R., Moreno F., Chow E.Y., Checkley S.L. Development of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay for detecting equine serum antibodies to the

lipopolysaccharide of *Salmonella abortus equi* // Research in Veterinary Science. – 2006. – Vol.8, №2. – P.7-215.

11 Li Q., Zhu Y., Yin K., Xu L., et al. Purification of recombinant Ipa J to develop an indirect ELISA-based method for detecting *Salmonella enterica* serovar Pullorum infections in chickens // BMC Vet Res. – 2019. – Vol.5. – P.1-3.

12 Burgess B.A., Noyes N.R., Bolte D.S., et al. Rapid *Salmonella* detection in experimentally inoculated equine faecal and veterinary hospital environmental samples using commercially available lateral flow immunoassays // Equine Vet J. – 2015. – Vol.47. – P.119-22.

13 Sova V.V., Kusaikin M.I. Vydelenie i ochistka belkov. Metodicheskoe posobie po kursu «Khimii i biokhimii belkov i fermentov» // Metodicheskoe posobie k prakticheskim zaniatiyam po ochistke belkov. – Vladivostok: Izd-vo Dalnevost. un-ta, -2006. – 42 s.

14 Bulashev A.K., Suranshiev Zh.A., Zhumalin A.Kh., Tursunov K.A. Antigennost belkov vneshnei membrany brutsell // Biotekhnologiya. Teoriya i praktika. – 2016. – №1. – S. 20- 26.

ЖЫЛҚЫЛАРДЫҢ САЛЬМОНЕЛЛЕЗДІК ТҮСІГІН СЕРОЛОГИЯЛЫҚ ДИАГНОСТИКАЛАУ ҮШІН ИММУНОФЕРМЕНТТІК ТАЛДАУ ЖАСАУ

Боровиков Сергей Николаевич

*Биология ғылымдарының кандидаты, профессордың м.а.,
С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті
Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан
E-mail: nicsb_katu@mail.ru*

*Сыздыкова Альфия Сафиоллақызы
Техника ғылымдарының магистрі*

*С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті
Нұр-Сұлтан қ., Қазақстан
E-mail: halik.kz@mail.ru*

Түйін

Мақалада биелердегі сальмонелла түсіктерінің серологиялық диагностикасы үшін иммуноферменттік талдау (ИФА) өндіру хаттамаларын әзірлеу бойынша зерттеулердің нәтижелері сипатталған. Тасымалдаушы *Salmonella enterica abortus equi* ультрадыбыстық ыдырауы және сыртқы мембрана ақуыздары (ОМП) арқылы алынған антигендер арқылы сенсублизацияланды. Алынған антигендерді қолдану негізінде 96 шұңқырлы пластинадағы жанама ИФА нұсқасын орнату хаттамалары әзірленді. Нәтижесінде реакцияны жүргізудің оңтайлы параметрлері анықталып, қуантарлық нәтижелер алынды. ELISA орнатудың ұсынылған нұсқаларының тиімділігін анықтау үшін коммерциялық антигенді қолдану арқылы салыстырмалы зерттеулер жүргізілді. Тәжірибе нәтижелері бойынша

салыстырылған сынақтардың көмегімен алынған мәліметтер арасында корреляция байқалды. ОМБ антигенін қолдануға негізделген иммуноферменттік талдаудың әзірленген нұсқасын ветеринариялық тәжірибеде енгізу үшін ұсынуға болады, өйткені бүгінгі күні мұндай отандық сынақ жоқ

Кілт сөздер: *Salmonella enterica*; биедегі сальмонелла түсіктері; антигендер; спецификалық антиденелер; антидене титрі; диагностика; иммундық ферментті талдау.

DEVELOPMENT OF ENZYME IMMUNOASSAY FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF EQUINE SALMONELLA ABORTION

Borovikov Sergey Nikolaevich

Candidate of Biological Sciences, acting professor

S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University

Nur-Sultan, Kazakhstan

E-mail: nicsb_katu@mail.ru

Syzdykova Alfiya Safiollaevna

Master of Technical science,

S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University

Nur-Sultan, Kazakhstan

E-mail: halik.kz@mail.ru

Abstract

The article describes the results of studies on the development of protocols for the production of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serological diagnosis of *Salmonella abortus equi* in mares. The carrier was sensitized using antigens obtained by ultrasonic disintegration and outer membrane proteins (OMPs) of *Salmonella enterica abortus equi*. Based on the use of the obtained antigens, protocols for setting up an indirect ELISA variant on a 96-well plate were developed. As a result, the optimal parameters for carrying out the reaction were determined and encouraging results were obtained. To determine the effectiveness of the proposed options for setting the ELISA, comparative studies were carried out using a commercial antigen. According to the results of the experiment, a correlation was noted between the data obtained using the compared tests. The developed version of the enzyme immunoassay based on the use of the OMB antigen can be proposed for implementation in veterinary practice, since today there is no similar domestic test.

Key words: *Salmonella enteric*; salmonella abortion in mares; antigens; specific antibodies; antibody titer; diagnosis; enzyme immunoassay.

