

ВАКЦИНА ЕГІЛГЕН ТОРПАҚТАРДЫҢ ҚАН САРЫСУЫНДАҒЫ *BRUCELLA*-ҒА ТЕЛІМДІ АНТИДЕНЕЛЕРДІ АНЫҚТАУ

*А.Қ. Бұлашев, в.ғ.д., профессор,
Ө.С. Әкібеков, в.ғ.к., қауымдастырылған профессор,
Ж.Ә. Сұранишев, в.ғ.к., доцент,
А.С. Сыздыкова, т.ғ.м.,
Б.Қ. Іңірбай, докторант*

*«С.Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық университеті» КеАҚ
Жеңіс даңғылы, 62, Нұр-Сұлтан қ., 010011, Қазақстан, aytbay57@mail.ru*

Аңдатпа

Мақалада бруцеллалардың сыртқы мембранасының рекомбинантты протеиндерінің (Omp19, Omp 25, Omp 31) рВР26 периплазматикалық протеиндері мен супероксиддисмутазаның (SOD) антигенділігі вакцина егілген торпақтардың қан сарысуларын қолдана отыра иммунды ферменттік талдаудың «жанама» қойылымында (ж-ИФТ) зерттелген. Зерттеу барысында роз-бенгал сыналасымен (РБС) салыстырғанда, рекомбинантты протеиндерді бруцеллалардың антигені ретінде қолдану ИФТ-дың сезімталдығын, телімділігі мен дәлдігін айтарлықтай арттыра түсетіндігі айқындалды. *B. abortus* 19 штаммының толық дозасымен иммунделген жануарлардың көпшілігінің (69%-94%) организмінде, иммунделген күнінен бастап кем дегенде 6 айға дейін (бақылау уақыты) поствакциналды антиденелердің болатындығы дәлелденген.

ИФТ «жанама» қойылымында серопозитивті қан сарысуларының кей жағдайларда бірден барлық қолданылған протеиндермен әрекеттесе алмайтындығы белгілі болды. Бұл бақылаулар торпақтардың қан сарысуын зерттеу кезінде бірыңғай антиген ретінде Omp19+Omp25 құрамасын сынауға негіз болды. Нәтижесінде, бруцелланың ең негізгі екі сыртқы мембранасының протеиндерінен құралған антиген ИФТ-нің сезімталдығын айтарлықтай жоғарылатты. Демек, иммунды талдауға арналған антиген бруцеллалардың бірнеше рекомбинантты протеиндердің құрамасынан тұру қажет екендігі айқындалды.

Кілттік сөздер: торпақтар, бруцеллез, *Brucella* рекомбинантты протеиндері, антигенділік, иммуногенділік, серология, ИФТ, диагностика.

Кіріспе

Бруцеллез – адам мен жануарлардың аса қауіпті жұқпалы ауруларының бірі – жер шарының

барлық континенттерінде тіркелген. Жыл сайын әлемде бруцеллез ауруына жарты миллионнан астам

адам шалдығады, алайда шынтуайтында бұл індетті жұқтыратын адамдардың саны бұдан да көп [1].

Қазақстанда адамдар мен жануарлардың бруцеллезге шалдығуы барлық өңірлерде кеңінен етек жайған [2]. Бруцеллездің полигостальдығы, қоздырғыштың полиморфизмі, адам мен жануарларда созылмалы, жиі жағдайдағы жасырын ауру ағымы, клиникалық көріністердің әртүрлілігі оны балау мүмкіншілігін күрделілендіре түседі, бұл өз кезегінде бруцеллезге қарсы іс-шаралардың тиімділігіне теріс әсер етеді [3, 4].

Бруцеллезді жою бойынша ветеринариялық-санитариялық іс-шаралар кешенінің маңызды әрекетінің бірі- ауру малды дер кезінде анықтап, оқшаулау болып табылады. Жануарлардың бруцеллезін тірі кезінде балау негізінен агглютинация реакциясы (АР), роз-бенгал сынамасы (РБС) және комплементті байланыстыру реакциясы (КБР) сияқты серологиялық реакцияларды қолдану арқылы іске асырылады [5]. Ауруды жұқтырған немесе вакцина егілген жануарлардың биологиялық сұйықтықтарында (қан сарысуы, сүт ж.т.б.) бруцеллелардың S-липополисахаридтеріне (ЛПС) қарсы антиденелер ұзақ уақыт бойы кездеседі [6]. Жоғарыда аталған дәстүрлі серологиялық реакцияларда антиген ретінде бруцеллалардың тұтас жасушалары қолданылады, сондықтан қан сарысуларында негізінен патогеннің жасуша сыртындағы S-ЛПС-терге қарсы

бағытталған антиденелер анықталады. Мұндай антиденелерді бруцеллалармен антигенділік құрылымы жағынан ұқсас басқа да грам-теріс бактериялардың (*Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella* spp. және *Escherichia coli*) S-ЛПС-терінде түзей алады. Бұл жағдай серологиялық реакциялардың бруцеллезге жалған оң нәтиже көрсетуіне әкеледі [7]. Осыған байланысты қазіргі кезде *Brucella* сыртқы мембрананың протеиндері (Omp) бруцеллезге қарсы вакциналарды және диагностикалық препараттарды әзірлеумен айналысатын зерттеушілердің басты назарында болып отыр [8,9].

Бүгінгі күні рекомбинантты протеиндерді алу технологиясы көптеген жұқпалы ауруларға қарсы заманауи диагностикалық препараттарды әзірлеу мен дайындаудың негізі болып табылады. Бұл технология ауру қоздырғыштарының нәруыздарын зардапсыз прокариот штаммдарынан алуға негізделген және дәстүрлі технологияларға қарағанда патогеннің рекомбинантты антигендерінің стандартталған препараттарын алуға мүмкіндік береді [10]. Одан қалды, бруцеллалардың рекомбинантты протеиндері антигенділігі жағынан оның күрделі тұтас жасушаларына қарағанда серологиялық реакциялардың стандартталуын жақсартуға мүмкіндік бермек [11,12].

Жұмыстың басты мақсаты вакцина егілген торпақтардың қан сарысуларындағы бруцеллез ауруының қоздырғышына телімді

антиденелерді ИФТ-інде *Brucella* тұқымының рекомбинантты

протеиндерін қолдану арқылы зерттеу болып табылады.

Зерттеу әдістері мен материалдары

Бруцелланың рекомбинантты протеиндері. Жұмыс барысында бастапқы зерттеулерімізде алынған бруцелланың сыртқы мембранасының рекомбинантты протеиндері: Omp25 *B. abortus*, Omp31 *B. melitensis* [13], Omp19 *B. abortus* [14] және *Brucella*-ның рBP26 периплазматикалық нәруызы мен супероксиддисмутаза (SOD) қолданылды. Соңғы екі нәруызды ҚР Ұлттық Биотехнология Орталығының жетекші ғылыми қызметкері, доцент С.З. Ескендірова осы жұмысымызда сынау үшін ұсынды.

Қан сарысулары. Бруцеллезден таза «Мереке» шаруа қожалығы (ШҚ) (Қарағанды облысы, Бұқар жырау ауданы) фермасындағы қазақтың ақбас тұқымды 118 бас қара малдың қан сынамалары алынды. Олардың арасында *B. abortus* 19 вакцинасының толық дозасымен егілген 51 бас бұқашықтардың және 67 тайыншалардың қан сарысуы үлгілері зерттеу жұмыстарында қолданылды. ИФТ «жанама» қойылымында негативті бақылау ретінде бруцеллезге қарсы егілмеген осы шаруашылықтың 3 өндіргіш бұқаларының қан сарысулары қолданылды.

Бруцеллалардың протеиндік препараттарының антигенділігін ж-ИФТ белгілі әдіспен жүргізілді [15]. Қысқаша қайырғанда,

полистиролды планшеттің (Thermo Fisher Scientific, АҚШ) шұңқыршаларын бруцелланың рекомбинантты протеиндерімен жеке-жеке сенсibiliздедік. Одан әрі, 0,05% твин-20 (Sigma-Aldrich, АҚШ) қосылған буферленген физиологиялық ерітіндіде қан сарысуы үлгілерінің төрт шұңқыршада сұйылтымдары (1:100-1:800) дайындалып, 1 сағат бойы инкубацияланды. Уақыт өткен соң планшет шұңқыршалары шайылып, оларға пероксидаза ферментімен таңбаланған сиыр IgG қарсы антиденелер (конъюгат) енгізілді. Реакция нәтижелері ферменттің субстраты – ортофенилендиамин (Sigma-Aldrich, АҚШ) ерітіндісінің көмегі арқылы анықталды. Егер зерттеуге алынған қан сарысудың оптикалық тығыздығының (зкОТ) көрсеткіші 1:100 сұйылтымындағы негативті бақылаудың оптикалық тығыздығының (бкОТ) орташа мәнінен 2 есе немесе одан да жоғары болса, реакция нәтижесі оң деп есептеледі.

Роз-бенгал сыналасын қою дайындаушының нұсқаулығында берілген әдістеме бойынша жүзеге асырылды («Антиген» ҒӨК, Алматы).

РБС сезімталдылығы, телімділігі және дәлділігі мына төменгі формулалар бойынша анықталды:

$$\text{РБС сезімталдылығы} = \frac{\text{ИФТ(+)} \text{ мал арасындағы РБС(+)} \text{ мал саны}}{\text{ИФТ(+)} \text{ мал саны}} \times 100; \quad (1)$$

$$\text{РБС телімділігі} = \frac{\text{ИФТ(-)} \text{ мал арасындағы РБС(-)} \text{ мал саны}}{\text{ИФТ(-)} \text{ мал саны}} \times 100; \quad (2)$$

$$\text{РБС дәлділігі} = \frac{\text{ИФТ(+)} \text{ мал арасындағы РБС(+)} \text{ мал саны} + \text{ИФТ(-)} \text{ мал арасындағы РБС(-)} \text{ мал саны}}{\text{Зерттелген мал басының жалпы саны}} \times 100; \quad (3)$$

Серологиялық зерттеу нәтижелерін статистикалық өңдеуден өткізу жұмыстары Т.С. Сайдулдин (1981) бойынша жүргізілді [16]. Әр түрлі ИФТ

«жанама» қойылымдарының нәтижелері арасындағы корреляция коэффициенттері MS Excel 2007 қолданбалы бағдарламаларының көмегімен анықталды.

Зерттеу нәтижелері

Бруцеллезден таза фермадағы (Қарағанды облысы, Бұқар Жырау ауданы, "Мереке" ШҚ) 4-5 айлығында *B. abortus* 19 штамм

вакцинасының толық дозасымен егілген 38 бас бұқашықтардың қан сарысуларын серологиялық зерттеу нәтижелері 1-кестеде көрсетілген.

1-кесте. Бруцеллезден таза фермадағы бұқашықтардың қан сарысуын ж - ИФТ тексеру нәтижесі

зҚОТ/бқОТ	ж-ИФТ қолданылған бруцелланың протеиндік антигендері			
	Omp19	Omp25	BP26	SOD
	Жануарлар саны (n=38)			
1,99 дейін	1	0	1	7
2,1-ден 4,0 дейін	0	0	8	16
4,1 -ден 6,0 дейін	0	0	11	11
6,1-ден 10,0 дейін	21	12	13	4
10,1-ден 14,0 дейін	8	11	4	0
14,1 -ден 18,0 дейін	8	7	1	0
18,0 жоғары	0	8	0	0
Серопозитивті жануарлардың саны (%),	37 (97,4)	38 (100)	37 (97,4)	31 (81,6)
зҚОТ/бқОТ	10,4±0,6	13,2±0,8	6,2±0,5	3,7±0,3

Зерттелген мал басының 22-і (57,9%) РБС бойынша оң нәтиже

берсе, ж-ИФТ/SOD көмегімен *анти-Brucella* телімді антиденелер 31

баста (81,6%) анықталды, ал ж-ИФТ/Omp19 және ж-ИФТ/VP26 телімді антиденелерді 37 бұқашықтың қан сары суында (97,4%) табылды. ж-ИФТ/Omp25 антигені айтарлықтай сезімталдылық көрсетіп, барлық мал басынан телімді антиденелерді айқындап берді. РБС-ында теріс нәтиже көрсеткен 7 бас малдың төртеуі ж-ИФТ/SOD да теріс нәтиже берді. Кестеден көрініп тұрғандай, Omp25 негізіндегі ж-ИФТ зҚОТ/бҚОТ орташа көрсеткіші бойынша Omp19 ($P \leq 0,05$), VP26 және SOD ($P \leq 0,001$) протеиндеріне негізделген иммунды талдаудың басқа варианттарынан анағұрлым асып түсті. Жалпы алғанда, анти-*Brucella* антиденелерімен байланысу қарқындылығы бойынша периплазмалық протеиндер сыртқы мембраналық протеиндермен салыстырғанда біршама кемішін түсті ($P \leq 0,001$).

2-кестеде аталмыш ферманың 5 ай бұрын *V.abortus* 19 вакцинасымен иммундеген басқа бір бұқашықтарының (n=13) серологиялық зерттеу нәтижелері берілген.

Бұқашықтардың бұл тобында РБС бойынша 5 бас (38,5%) оң

нәтиже көрсетті. ж-ИФТ-да қолданылған барлық рекомбинантты протеиндерге РБС-да оң нәтиже көрсеткен үш бұқашықтың (№6, 7 және 8) қан сарысуының екі сұйылтымында да телімді антиденелер анықталды. Алайда, бір серопозитивті жануардан (№12) Omp19 және №13 жануардан Omp31, SOD және VP26 рекомбинантты протеиндерге телімді антиденелер айқындалмады.

Барлық жануарлардың қан сарысуларының құрамынан бруцеллалардың сыртқы мембрана және/немесе периплазмалық протеиндеріне қарсы түзілген антиденелер анықталды. Алайда, уақыт өте ж-ИФТ оң көрсеткіштері бар бұқашықтардың саны төмендей бастады. Айталық, вакцинация жасағаннан кейін 3,5 ай өткен соң SOD, Omp19, VP26 және Omp25 антигендеріне телімді антиденелер сәйкесінше 81,6%, 97,4%, 97,4% және 100% бұқашықтарда анықталса, ал иммунизациядан 5 ай асқанда иммунды талдауда позитивті көрсеткіштері бар жануарлардың үлесі тиісінше 69,2%, 69,2%, 92,3% және 84,6% дейін төмендеді.

2-кесте. Вакцинациядан соң 5 ай өткеннен кейін бұқашықтардың қан сарысуларын серологиялық зерттеу нәтижелері

Жануарлардың нөмірі	РБС	ж-ИФТ-да антиген ретінде пайдаланылған рекомбинантты протеиндер									
		Omp19		Omp25		Omp31		SOD		Vp26	
		1:100	1:200	1:100	1:200	1:100	1:200	1:100	1:200	1:100	1:200
1	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
2	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
3	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

4	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-
6	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	++++		+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	++++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-
10	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
11	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+++	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
13	+++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
1 (+) – оң нәтиже; 2 (-) – теріс нәтиже											

Кейбір бұқашықтардың қан сарысуларының 1:200 сұйылтымындағы үлгілерінен Omp25 (№9), SOD (№1) және BP26 (№5,9,10) антигендеріне телімді антиденелер табылмады. Айта кететін мәселе, қолданылған протеиндердің арасында антигенділігі жағынан басқалардан асып түсетін протеин болған жоқ.

Басқаша айтқанда, бір протеин белгілі бір малдың қан сарысуындағы антиденелермен байланысқа түсіп жатса, ал қалғандары бұл антиденелерге телімділік көрсетпеді. Бұл мәселе 3-кесте. Бруцеллезге қарсы егілген бұқашықтардың 5 ай өткеннен соң ИФТ –індегі зҚОТ/бҚОТ мәні

иммунды талдаудың сезімталдығын арттыру мақсатында бір емес бірнеше рекомбинантты протеиндерден құрастырылған бірыңғай антиген керектігін көрсетеді.

Поствакциналық кезеңде серопозитивті бұқашықтар санының төмендеуімен қатар ж-ИФТ-да антиген+антиденелер реакциясының қарқындылығының әлсіреуі де байқалды. Бұл жағдай зҚОТ-ның бҚОТ-на қарым-қатынасы бойынша (зҚОТ/бҚОТ) сараланды (3-кесте).

зҚОТ/бҚОТ	ж-ИФТ қолданылған протеиндік антигендер				
	Omp19	Omp25	Omp31	BP26	SOD
	Жануарлар саны (n=13)				
1,99 дейін	4	2	2	1	4
2,0-ден 4,0 дейін	6	2	5	5	7
4,1-ден 6,0 дейін	2	2	5	6	2
6,1-ден 8,0 дейін	0	3	1	1	0
8,1 жоғары	1	4	0	0	0
Серопозитивті жануарлар саны (%)	9(69,2)	11(84,6)	11(84,6)	12(92,3)	9(69,2)
зҚОТ/бҚОТ	3,4±0,6	6,1±0,9	3,8±0,5	4,1±0,5	2,8±0,3

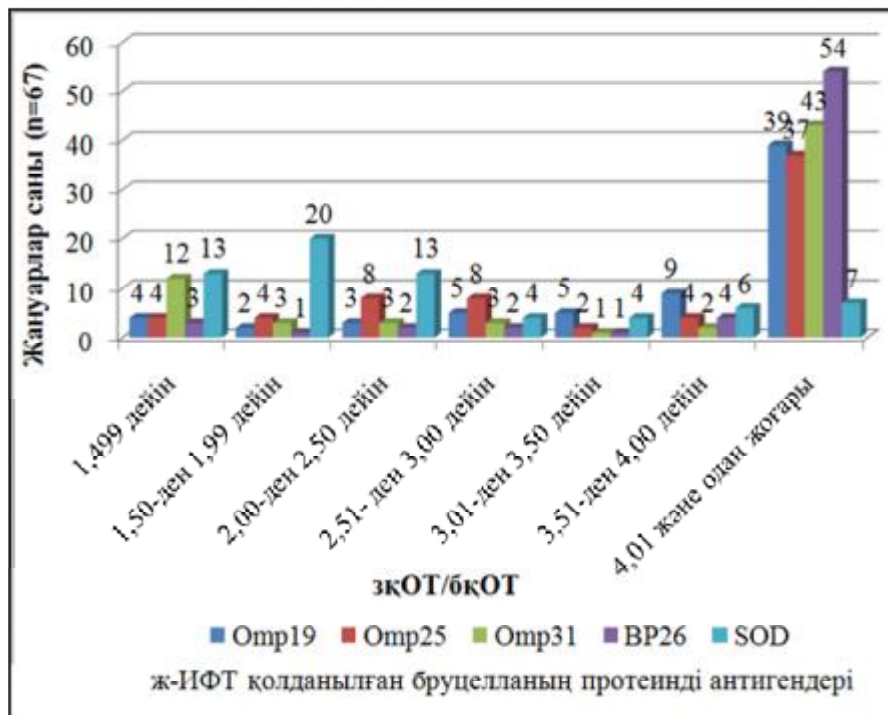
Мысалы, зерттелген кезеңдер арасында (екпеден кейінгі 3,5 және 5

ай) вакциналық антиденелердің Omp19 (10,4±0,6-дан 3,4±0,6 дейін;

$P \leq 0,001$) және Omp25 ($13,2 \pm 0,8$ -ден $6,1 \pm 0,9$ дейін; $P \leq 0,001$) сыртқы мембраналық протеиндерімен әрекеттесу қарқындылығы едәуір әлсіреді. Мұндай жағдай антигендер ретінде BP26 ($6,2 \pm 0,5$ -ден $4,1 \pm 0,5$ дейін) және SOD ($3,7 \pm 0,3$ -ден $2,8 \pm 0,3$ дейін) периплазматикалық протеиндерін қолданғанда да байқалды, бірақ бұл айырмашылықтардың сенімділігі төменірек болды ($P \leq 0,05$).

Суретте серологиялық зерттеулерге дейін 6 ай бұрын *B. abortus* 19 вакцинасының толық дозасымен иммунделген осы ферманың 67 тайыншаларының қан сарысуының үлгілерімен рекомбинантты протеиндердің антигендігін зерттеу нәтижелері берілген.

Суреттен байқағанымыздай, тайыншалар арасында жоғары серопозитивтілік *B. abortus* 19 вакцинасының толық дозасымен иммунделгеннен соң 6 ай өткеннен кейін де сақталатындығы айқындалып отыр. Қолданылған рекомбинантты протеиндердің арасында иммунды тайыншалардың қан сарысулары үшін ең үлкен антигендік қасиетті BP26 көрсетті. Сонымен қатар, бұл протеин ж-ИФТ-да жоғары сезімталдылық көрсетіп қана қоймай (94,0%), антиденелермен байланысудың қарқындылығы бойынша да басқа қолданған антигендерден зҚОТ/бҚОТ-ның орташа мәні бойынша асып түсті ($9,8 \pm 0,8$; $P \leq 0,05$ – $P \leq 0,001$).



Сурет - Бруцеллезден ада фермадағы иммунды тайыншалардың антиденелеріне *Brucella* сыртқы мембрана белоктарының антигенділігі

ж

-ИФТ-нің салыстырмалы төмен сезімталдығы Omp31 (77,6%) және

SOD – ны (50,7%) пайдалану кезінде орын алды. Соңғы антигеннің

иммунделген жануарлардың антиденелерімен байланысу қарқындылығы басқа рекомбинантты протеиндермен салыстырғанда айтарлықтай төмен болды. Мысалы, ж-ИФТ-да Omp19, Omp25 және Omp31 антигендерін қолданғанда серопозитивті тайыншалардың жартысынан астамында (63%-86%) зҚОТ/бҚОТ-тың көрсеткіштері 4,01-ден және одан да жоғары болды, ал ж-4-кесте. ж-ИФТ-мен салыстырғандағы РБС сезімталдығы, телімділігі және дәлдігі

ИФТ нұсқалары	Сезімталдылығы	Телімділігі	Дәлділігі
	РБС, %		
ж-ИФТ/SOD	96,8	17,1	55,2
ж-ИФТ /BP 26	88,9	0	83,6
ж-ИФТ /Omp 31	92,3	14,3	74,6
ж-ИФТ /Omp 25	89,8	12,5	80,6
ж-ИФТ /Omp 19	90,3	20,0	85,1

4-кестеде көрсетілгендей, РБС, 88,9% - дан 96,8% аралығында сезімталдық көрсетіп, ж-ИФТ нұсқаларының бірде-біреуінің барлық оң нәтижелерін растай алмады және оның телімділігі айтарлықтай төмен болды (12,5%-дан 20,0%-ға дейін), ал РБС теріс нәтиже көрсеткен барлық тайыншалардың (7 бас) қан сарысулары ж-ИФТ/BP26 оң реакция көрсетті. Одан қалды, реакция қарқындылығы өте жоғары болып, зҚОТ/бҚОТ коэффициентінің орташа мәні 7,0-ге сай келді. Тайыншаларды серологиялық зерттеу кезінде де ж-ИФТ-де қолданылған протеиндердің арасында РБС-серопозитивті қан сарысуына антигенділігі жағынан басқалардан басым түсетін протеиннің жоқтығы анықталды.

ИФТ/SOD-та мұндай коэффициенті бар жануарлардың үлесі 21% - ды (7 бас) ғана құрады.

Бруцеллезге қарсы антиденелер РБС-ында 60 бастан немесе 89,6% малдан табылды. РБС-ның сезімталдығын, телімділігін және дәлдігін ж-ИФТ-дың әр түрлі нұсқаларымен салыстырмалы зерттеу нәтижелері 4-кестеде көрсетілген.

Мәселен, тек 21 баста ғана (31,3%) барлық пайдаланылған рекомбинантты протеиндермен байланыса алатын антиденелер табылды. Демек, жекелеген рекомбинантты протеиндерді қолдану ж-ИФТ телімділігін жоғарылатқанымен, жануарларды бруцеллезге серологиялық зерттеу кезінде реакцияның сезімталдығын төмендетеді. Осыған орай, иммунды талдаудың сезімталдығын арттыру үшін бір ғана нәруыз емес, бірнеше рекомбинантты протеиндердің құрамасынан тұратын антигенді пайдаланған жөн деп таптық.

Осы болжамдарды тексеру үшін 67 тайыншалардың қан сарысуларының үлгілерінен ж-ИФТ/Omp19 және ж-ИФТ/Omp25 қойылымындарында анти-*Brucella* антиденелеріне қарама-қарсы, яғни

оң және теріс нәтижелер көрсеткен 13 малдың қан сарысулары іріктеліп алынды.

Аталған қан сарысуы үлгілерімен ж-ИФТ қойылды, онда антиген ретінде әрқайсысының үлесі 5 мкг/мл болатын Omp19+Omp25 протеиндерінің құрамасы қолданылды. Серологиялық талдау біздің болжамымыздың дұрыстығын растап, нәруыздардың

комбинациясы иммундық талдаудың сезімталдығын жоғарлататындығын көрсетті.

Нәтижесінде бруцеллалардың жекеленген Omp19 және Omp25 нәруыздарына өз-ара қарама-қайшы нәтижелер көрсеткен барлық қашарлардың қан сарысуларында *Brucella*-ға телімді антиденелер құрама антигеннің көмегімен ж-ИФТ-де бір мезгілде анықталды.

Қорытынды

Бруцеллалардың сыртқы мембрана нәруыздарын ж-ИФТ-да антиген ретінде пайдалану оның сезімталдығын, телімділігін және дәлдігін РБС-мен салыстырғанда айтарлықтай арттырады.

B.abortus 19 вакцинасының толық дозасымен имунделген төлдердің басым бөлігінде (69% -92% бұқашықтар және 88%-94% тайыншалар) екпе жасағаннан соң 5-6 ай өтсе де, бруцеллалардың Omp19, Omp25 Omp31 және BP26 протеиндерімен байланысатын антиденелердің болатындығы анықталды.

Бруцеллезге қарсы егілген қара малдың серопозитивтілігінің уақыт өте төмендеуі тек ж-ИФТ/SOD нәтижелері бойынша ғана байқалды: 3,5 айдан соң - 82%, 5 айдан соң - 69% және 6 айдан кейін - 51%.

Вакцина егілген қара малда бруцеллалардың сыртқы мембраналық және/немесе периплазматикалық нәруыздарына қарсы телімді антиденелер бір мезетте түзілмейді. Осыған орай, серопозитивті жануарларды ж-ИФТ-да толығырақ анықтау мақсатында екі және одан да көп протеиндердің комбинациясынан тұратын құрама антигенді қолданған жөн.

Әдебиеттер тізімі

1 Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E.V. The New Global Map Of Human Brucellosis // *Lancet Infect Dis.*-2006.- Vol.6.-P.91-99.

2 Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. — Алматы: Атамұра, 2007. — 610 с.

3 Maudlin I., Eisler M.C., Welburn S.C. Neglected and Endemic Zoonoses // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.*-2009.-Vol. 364.-P.2777-2787.

4 Watarai M., Kim S., Yamamoto J., et al. A rapid agglutination assay for canine brucellosis using antigen coated beads // *J Vet Med Sci.* – 2007. – Vol. 69. – P.477-480.

5 Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Бердникова Т.В. и др. Обзор эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз на 2018 г. // Проблемы особо

опасных инфекций. – 2018. Ч. 2.– С. 23–29.

6 Bonfini B., Chiarenza G., Paci V., Sacchini F. et al. Crossreactivity in serological tests for brucellosis: a comparison of immune response of *Escherichiacoli* O157:H7 and *Yersiniaenterocolitica* O:9 vs *Brucellaspp* // *Veterinaria Italiana*. – 2018.– Vol.54, №2. – P.107–114

7 Delpino M.V., Estein S.M., Fossati C.A., et al. Vaccination with *Brucella* recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against *Brucella abortus* infection in BALB/c mice // *Vaccine*. – 2007. – Vol.25. – P.6721-6729.

8 Kim G., Her M., Kang S., et al. Immunogenic proteins of *Brucella abortus* to minimize cross reactions in brucellosis diagnosis // *Veterinary Microbiology*. – 2012.–Vol.156.– P.374-380.

9 Sowa B., Kelly K., Ficht T., et al. SDS-soluble and peptidoglycan-bound proteins in the outer membrane-peptidoglycan complex of *Brucella abortus* // *Vet Microbiol*. – 1991. – Vol.27. – P.351-369.

10 Mirkalantari S., Zarnani A., Nazari M. et al. *Brucella melitensis* VirB12 recombinant protein is a potential marker for serodiagnosis of human brucellosis // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob*. – 2017. – Vol. 16, -№8.

11 Navarro-Soto M.C., Gomez-Flores R., Morales-Loredo A., et al. Effective use of recombinant *Brucella ovis* Omp31 antigen to detect cattle serum antibodies by the ELISA indirect test // *Biotechnology Summit*. Santa MaríaHuatulco, Oaxaca, Mexico. - 2014.-P.139–143.

12 Manat Y., Shustov A.V., Evtehova E., Eskendirova S.Z. Expression, purification and immunochemical characterization of recombinant OMP28 protein of *Brucella* species // *Open Veterinary*. – 2016. – Vol.6. – P.71-77.

13 Bulashev A., Jakubowski T., Tursunov K., et al. Immunogenicity and antigenicity of *Brucella* recombinant outer membrane proteins // *Veterinarija Zootechnika*.–2018. – Vol.76, №98. – P.17–24.

14 Булашев А.К., Турсунов К.Т., Каирова Ж.К., и др. Получение штамма продуцента рекомбинантного БВМ19 *Brucella abortus* и изучение его антигенности // *Вестник КазАТУим.С.Сейфуллина*. –2018. – Vol.3, №98. – С. 117–127.

15 Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G // *Immunochemistry*.– 1971. – Vol. 9. – P.871-874.

16 Сайдулдин Т.С. Статистическая обработка результатов серологических реакций // *Ветеринария*. – 1981. – №7.– С.62-66.

REFERENCES

1 Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E.V. The New Global Map Of Human Brucellosis // *Lancet Infect Dis*.-2006.- Vol.6.-P.91-99.

2 Ivanov N.P. Brutsellez zhivotnyih i meryi borbyi s nim. — Almaty: Atamura, 2007.— 610 p.

3 Maudlin I., Eisler M.C., Welburn S.C. Neglected and Endemic Zoonoses //

Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.-2009.-Vol. 364.-P.2777-2787.

4 Watarai M., Kim S., Yamamoto J., et al. A rapid agglutination assay for canine brucellosis using antigen coated beads // *J Vet Med Sci.* – 2007. – Vol. 69. – P.477-480.

5 Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Berdnikova T.V. i dr. Obzor epizootologicheskoy i epidemiologicheskoy situatsii po brutsellezu v Rossiyskoy Federatsii v 2017 g. i prognoz na 2018 g. // *Problemyi osobo opasnyih infektsiy.* – 2018. Ch. 2.– P. 23–29.

6 Bonfini B., Chiarenza G., Paci V., Sacchini F. et al. Crossreactivity in serological tests for brucellosis: a comparison of immune response of *Escherichia coli* O157:H7 and *Yersinia enterocolitica* O:9 vs *Brucella spp* // *Veterinaria Italiana.* – 2018.– Vol.54, №2. – P.107–114

7 Delpino M.V., Estein S.M., Fossati C.A., et al. Vaccination with *Brucella* recombinant DnaK and SurA proteins induces protection against *Brucella abortus* infection in BALB/c mice // *Vaccine.* – 2007. – Vol.25. – P.6721-6729.

8 Kim G., Her M., Kang S., et al. Immunogenic proteins of *Brucella abortus* to minimize cross reactions in brucellosis diagnosis // *Veterinary Microbiology.* – 2012.–Vol.156.– P.374-380.

9 Sowa B., Kelly K., Ficht T., et al. SDS-soluble and peptidoglycan-bound proteins in the outer membrane-peptidoglycan complex of *Brucella abortus* // *Vet Microbiol.* – 1991. – Vol.27. – P.351-369.

10 Mirkalantari S., Zarnani A., Nazari M. et al. *Brucella melitensis* VirB12 recombinant protein is a potential marker for serodiagnosis of human brucellosis // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* – 2017. – Vol. 16, -№8.

11 Navarro-Soto M.C., Gomez-Flores R., Morales-Loredo A., et al. Effective use of recombinant *Brucella ovis* Omp31 antigen to detect cattle serum antibodies by the ELISA indirect test // *Biotechnology Summit. Santa MaríaHuatulco, Oaxaca, Mexico.* - 2014.-P.139–143.

12 Manat Y., Shustov A.V., Evtehova E., Eskendirova S.Z. Expression, purification and immunochemical characterization of recombinant OMP28 protein of *Brucella* species // *Open Veterinary.* – 2016. – Vol.6. – P.71-77.

13 Bulashev A., Jakubowski T., Tursunov K., et al. Immunogenicity and antigenicity of *Brucella* recombinant outer membrane proteins // *Veterinarija Zootechnika.*–2018. – Vol.76, №98. – P.17–24.

14 Bulashev A.K., Tursunov K.T., Kairova Zh.K., i dr. Poluchenie shtamma produtsenta rekombinantnogo BVM19 *Brucella abortus* i izuchenie ego antigennosti // *Vestnik KazATUim.S.Seyfullina.* –2018. – Vol.3, #98. – P. 117–127.

15 Engvall E., Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G // *Immunochemistry.*– 1971. – Vol. 9. – P.871-874.

16 Sayduldin T.S. Statisticheskaya obrabotka rezultatov serologicheskikh reaktsiy // *Veterinariya.* – 1981. – #7.– P.62-66.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ *BRUCELLA* СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ВАКЦИНИРОВАННОГО ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА

*А.К. Булашев, д.в.н., профессор,
О.С. Акибеков, к.в.н., ассоциированный профессор,
Ж.А. Сураншиев, к.в.н., доцент,
А.С. Сыздыкова, м.т.н.,
Б.Қ. Іңірбай, докторант*

*НАО «Казахский агротехнический университет им.С.Сейфуллина»
проспект Победы, 62, г. Нур-Султан, 010011, Казахстан, aytbay57@mail.ru*

Резюме

Использование рекомбинантных белков в качестве антигена бруцелл значительно повышало чувствительность, специфичность и точность н-ИФА по сравнению с РБП. Иммунизация молодняка полной дозой вакцины из штамма *B. abortus* 19 вызывала у большинства животных (69%-94%) длительную персистенцию поствакцинальных антибелковых антител, выявляемых н-ИФА, по крайней мере до 6 мес. со дня иммунизации (время наблюдения). Следует особо подчеркнуть, что в сыворотке крови серопозитивных животных не всегда определялись антитела в н-ИФА ко всем использованным белкам одновременно. Кроме того, не было отдельно взятого белка, который по своей антигенности ни в одном случае не уступал бы другим. Эти наблюдения явилось основанием для испытания комбинации Omp19+Omp25 в качестве единого антигена при исследовании сывороток крови телок с взаимоисключающими антителами (анти-Omp19 или анти-Omp25). Как и следовало ожидать, комбинированный антиген из двух наиболее представительных БВМ бруцелл повысил чувствительность анализа, проявляя реактивность к антителам обоих белков. Таким образом, использование отдельных рекомбинантных белков бруцелл снижает чувствительность н-ИФА из-за «упущения» ими антител, специфичных к другим белкам. Следовательно, антиген для иммуноанализа должен состоят из комбинации двух и более рекомбинантных белков.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бруцеллез, *Brucella* рекомбинантные белки, антигенность, иммуногенность, серология, ИФА, диагностика.

DETERMINATION OF *BRUCELLA*-SPECIFIC ANTIBODIES IN BLOOD SERUM OF YOUNG CATTLE VACCINATED AGAINST BRUCELLOSIS

*A.K. Bulashev, Doctor of Veterinary Science, Professor
O.S. Akibekov, Candidate of Veterinary Science, Associate Professor*

Zh.A. Suranshiev, Candidate of Veterinary Science, Associate Professor
A.S. Syzdykova, Master of Technical Sciences
B.K. Ingirbay, doctoral student

S.Seifullin Kazakh Agronomical University, Zhenis avenue, 62, Nur-Sultan, 010011,
Kazakhstan, aytbay57@mail.ru

Summary

The use of recombinant proteins as a *Brucella* antigen significantly increased the sensitivity, specificity, and accuracy of in indirect *ELISA* (*iELISA*) compared to *RBPT*. Immunization of young animals with a full dose of the *B. abortus* 19 strain vaccine caused in the most animals (69%-94%) a prolonged persistence of post-vaccination anti-protein antibodies detected by *i-ELISA* for at least 6 months from the day of immunization (observation time). It should be emphasized that in the serum of seropositive animals, antibodies to all used proteins were not always determined simultaneously by *i-ELISA*. In addition, there was no single protein, which in its antigenicity would in no case be inferior to others. These observations provided the basis for testing the combination of *Omp19* + *Omp25* as a single antigen in studies of the heifer's blood serums with mutually exclusive antibodies (anti-*Omp19* or anti-*Omp25*). As expected, the combined antigen from the two most representative *OMP*s *Brucella* increased the sensitivity of the analysis and showing reactivity to antibodies of both proteins. Thus, the use of individual recombinant *Brucella* proteins reduces the sensitivity of *i-ELISA* due to their "omission" of antibodies specific for other proteins. Therefore, the antigen for immunoassay must consist of a combination of two or more recombinant proteins.

Keywords: cattle, brucellosis, *Brucella* recombinant proteins, antigenicity, immunogenicity, *ELISA*, diagnosis