

УДК: 579.62

Original Article

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЖИВОТНЫХ К ВОЗБУДИТЕЛЮ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ЛИМФАНГОИТА ЛОШАДЕЙ

Абдураимов Е.О.¹, Каукарбаева М.Ж.^{1*}, Рсалиев А.С.², Умуралиев Б.К.¹, Исахан А.А.¹, Оразымбетова Н.К.¹, Абеуов Х.Б.¹, Кондибаева Ж.Б.¹, Кошметов Ж.К.¹, Жакыпбек А.С.¹, Наханов А.К.¹

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
Гвардейский, Казахстан

²АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» Астана, Казахстан

Автор-корреспондент – m.kaukarbayeva@biosafety.kz

АБСТРАКТ

Отбор животных для получения специфических сывороток крови является важным этапом иммунологических исследований. Перед началом иммунизации у потенциальных доноров были взяты образцы крови для проведения исследований с использованием иммуноферментного анализа (ИФА), реакции диффузионной преципитации (РДП) и реакции длительного связывания комплемента (РДСК) с целью выявления антител к другим вирусным и бактериальным инфекциям. Опытным путем установлено, что в сыворотках крови кроликов, коз и овец, используемых для получения специфической сыворотки крови, не были выявлены антитела к возбудителям эпизоотического лимфангоита лошадей (ЭЛЛ), чумы мелких жвачных животных, оспы овец и сибирской язвы. Это необходимо для исключения возможных перекрестных реакций при использовании полученных иммунных сывороток в серологических реакциях. Для получения специфических сывороток в опыте были использованы очищенные антигены культур штаммов «Т», «3724 К» и «3730 К» возбудителя ЭЛЛ, обладающие активностью в РДП в пределах 1:16-1:32 и в РДСК не менее 1:40-1:80.

Для получения специфической сыворотки испытаны 11 схем иммунизации, которые отличались между собой способами иммунизации, концентрацией, объемом вводимого антигена, интервалами между введениями, и используемых для введения разных штаммов болезни.

Опытным путем нам удалось получить специфические и активные сыворотки от кроликов, коз и овец. Активность иммунных сывороток у кролика № 6 в РДП составила 1:32, в РДСК – 1:640, у козы №1 в РДП – 1:16, в РДСК 1:320 и у овцы №3 в РДП 1:8, в РДСК 1:160. Данные диагностические сыворотки будут использованы для постановки лабораторных методов для выявления антигена возбудителя ЭЛЛ в исследуемых биологических материалах.

Ключевые слова: эпизоотический лимфангоит лошадей, специфическая сыворотка, гипериммунизация, штамм, очищенный антиген.

ВВЕДЕНИЕ

Эпизоотический лимфангоит – это хроническая инфекционная болезнь, которая поражает лошадей, ослов, мулов и верблюдов. Заболевания вызывается микроскопическим грибом *Histoplasma farciminosum*, который был обнаружен Rivolta в 1873 году. Источник инфекции – это больные животные, которые выделяют большое количество криптококков с гноем язв в окружающую среду. Основными путями передачи возбудителя считаются навоз, подстилка, сено и другие загрязненные субстраты, в которых могут находиться выделения инфицированных животных [1]. Инфекция может передаваться от одного участка тела зараженного животного к другому, а также к здоровым лошадям.

Заболевание может возникать в различных уголках мира, чаще всего оно наблюдается в Азии и Африке [2]. В Казахстане первый случай эпизоотического лимфангоита был зафиксирован в 1921 году. На сегодняшний день данная болезнь регистрируется в нескольких областях, таких как Акмолинская, Алматинская, Павлодарская, Туркестанская и Карагандинская. Заболевание составляет 20,6 % от всех случаев инфекционных болезней среди лошадей, и при этом летальность достигает 19,3 % [3, 4].

Иммунные сыворотки – специфические препараты, содержащие антитела к определенному возбудителю или его токсинам. Различают лечебные (лечебно-профилактиче-

ские) и диагностические гипериммунные сыворотки и иммуноглобулины. Их получают из крови животных (чаще лошадей, волов, ослов, реже – кроликов, морских свинок и других животных), подвергнутых длительной активной иммунизации (гипериммунизации), или крови, молока естественно переболевших животных через 2-3 недели после выздоровления (сыворотки реконвалесцентов) [5].

Для большинства иммунологических исследований необходимо использовать иммунные сыворотки, полученные из крови животных, которым вводились различные антигенные вещества (АГ). Эффективность этих сывороток имеет значительное влияние на результаты экспериментов. Чтобы получить качественные сыворотки, важно разработать оптимальную схему иммунизации животных. Это включает в себя такие параметры, как физико-химические характеристики АГ, дозировки, методы введения, интервалы между прививками, общая продолжительность иммунизации, а также использование адъювантов и иммуномодуляторов.

Все серологические методы исследований предполагают использование антительных препаратов, большинство которых получают путем иммунизации животных-продуцентов. Получаемая при этом сыворотка используется для непосредственного выявления антигена в исследуемой пробе, либо служит источником иммуноглобулинов, которые идут на приготовление иммуносорбента для ИФА или различных конъюгатов. Активность

сыворотки существенно влияет на результаты исследований.

Каких-либо специальных методов получения сыворотки не существует, поэтому для каждого вида возбудителя необходимо подобрать эффективную схему иммунизации животных, с учетом дозы вводимого антигена, способа введения, интервала между введениями и кратности, а также применяемых адъювантов и иммуностимуляторов.

Общеизвестна зависимость антителообразования от дозы антигена, вводимого животному. В малых количествах антиген стимулирует недостаточный уровень антител, а в больших может вызывать так называемое «утомление», приводящее к снижению титра антител, или образованию антител с низкой аффинностью [6, 8]. Кроме того, многократное введение может способствовать появлению неспецифической реакции [6]. Качество получаемых сывороток зависит также от чистоты вводимого антигена.

Применение адъювантов позволяет снизить количество применяемого для иммунизации антигена и кратность иммунизаций. Действие адъювантов заключается в создании так называемого «депо», что способствует более медленному высвобождению антигена и длительному персистированию его в организме. Адъюванты вызывают местную воспалительную реакцию, что в свою очередь вызывает стимуляцию иммунного ответа [6].

Целью нашего исследования было получение активной и высокоспецифичной сыворотки против ЭЛЛ, которая может быть использована для разработки технологии приготовления тест-систем, используемых при лабораторной диагностике болезней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для гипериммунизации использовались очищенные культуральные антигены штаммов «Т», «3724 К» и «3730 К» возбудителя ЭЛЛ с активностью в РДП 1:16-1:32 и в РДСК не менее 1:40-1:80.

Для получения специфических сывороток против ЭЛЛ использовали 3-х овец, 2-х коз и 6 кроликов в качестве доноров. Перед началом гипериммунизации овцам и козам подкожно вводили антиген возбудителя ЭЛЛ в область предлопаточных лимфатических узлов в объеме 1 см³, а кроликам – внутримышечно в объеме 0,5 см³. Схема иммунизации отличалась объемами вводимого материала, его концентрацией, интервалами между введениями и активностью вводимого антигена. Через 14, 21 и 28 дней после начальной иммунизации была проведена гипериммунизация животных с использованием очищенного антигена штаммов «Т», «3724 К» и «3730 К» возбудителя ЭЛЛ. Схемы иммунизации были отработаны сотрудниками лаборатории диагностики инфекционных заболеваний.

1 схема:

1-е введение – кролику № 1 через 14 суток после иммунизации вводили в лимфатические узлы задних ног антиген из штамма «3724 К», в объеме 0,5 см³ в концентрации 33,6 мг/см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), активность вводимого материала в РДСК – 1:80;

2-е введение проводили через 7 суток после 1-го введения в лимфатические узлы задних ног, антигена в объеме 1,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 2 см³ внутривенно в концентрации 49,9 мг/см³ из штамма «3724 К», активность материала в РДСК составила 1:80.

2 схема:

1-е введение – кролику № 2 через 21 суток после иммунизации ввели в лимфатические узлы задних ног, антиген в объеме 1,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА – 0,02 %) и 2 см³ внутривенно, активность вводимого материала в РДСК – 1:80, антиген из штамма «3724 К» в концентрации 2,5 мг/см³.

3 схема:

1-е введение – кролику № 3 через 14 суток после иммунизации ввели в лимфатические узлы задних ног, антиген из штамма «3724 К» в объеме 0,5 см³ с концентрацией 33,6 мг/см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), активность вводимого материала в РДСК – 1:80;

2-введение через 7 суток после 1-го введения проводили в лимфатические узлы задних ног, антиген в объеме 1,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 1 см³ внутривенно в концентрации 22,6 мг/см³ из штамма «3724 К» с активностью в РДСК 1:80.

4 схема:

1-е введение – кролику № 4 через 21 суток после иммунизации ввели в лимфатические узлы задних ног, антиген в объеме 1,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 2 см³ внутривенно, активность вводимого материала в РДСК составило 1:40, и в концентрации 22,6 мг/см³ из штамма «3730 К»;

5 схема:

1-е введение – кролику № 5 через 21 суток после иммунизации ввели в лимфатические узлы задних ног, антиген в объеме 1,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 1 см³ внутривенно, активность вводимого материала в РДСК – 1:80, в концентрации 49,9 мг/см³ из штамма «Т»;

6 схема:

1-е введение – первоначально кролику № 6 ввели в 6 точек антиген из штамма «3724 К» с полным адъювантом Фрейнда (ПАФ) в соотношении 1:1 (0,1 см³ между лопатками, 0,1 см³ в область спины, 0,1 см³ в область копчика, по 0,5 см³ в правое и левое бедра, по 0,2 см³ в подушечки передних и задних лапок), активность материала в РДСК составила 1:80;

2-е введение антигена из штамма «3724 К» проводили через 28 суток после 1-го введения, внутривенно в объеме 1,0 см³, с активностью материала в РДСК 1:80;

3-е введение проводили через 10 суток после 2-го введения, антиген из штамма «3724 К» вводили внутривенно в объеме 1,0 см³, с активностью материала в РДСК 1:80.

7 схема:

1-е введение – козе № 1 через 14 суток после иммунизации вводили в предлопаточные лимфатические узлы антиген из штамма «3730 К» в объеме 2,0 см³ в концен-

трации 33,6 мг/см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80;

2-е введение через 7 суток после 1-го введения, антиген из штамма «Т» вводили в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 2,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3 см³ внутривенно в концентрации 2,5 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80;

3-е введение проводили через 7 суток после 2-го введения, антиген из штамма «3730 К» вводили в предлопаточные лимфатические узлы, в объеме 4,0 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3 см³ внутривенно в концентрации 84,7 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80.

8 схема:

1-е введение – козе № 2 через 21 суток после иммунизации вводили в предлопаточные лимфатические узлы антиген из штамма «Т» в объеме 2,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3,0 см³ внутривенно в концентрации 2,5 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80;

2-е введение через 7 суток после 1-го введения ввели в предлопаточные лимфатические узлы антигена в объеме 4,0 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3 см³ внутривенно в концентрации 147,0 мг/см³ из штамма «Т», активность вводимого материала в РДСК – 1:80.

9 схема:

1-е введение – первоначально овце № 1 ввели в 4-х точки антиген из штамма «3724 К» с ПАФ в соотношении 1:1 (2,0 см³ между лопатками, 2,0 см³ в область спины, 2,0 см³ в область копчика, по 2,0 см³ в правое и левое бедро), с активностью материала в РДСК 1:80;

2-е введение проводили через 28 суток после 1-го введения, антиген из штамма «3724 К» вводили внутривенно в объеме 2,0 см³ и в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 4,0 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), с активностью материала в РДСК 1:80;

3-е введение через 12 суток после 2-го введения, вводили антиген из штамма «3724 К» внутривенно в объеме 5,0 см³ и в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 4,0 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), с активностью материала в РДСК 1:80.

10 схема:

1-е введение – овце № 2 через 14 суток после иммунизации вводили антиген из штамма «3730 К» в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 2,0 см³ в концентрации 33,6 мг/см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %), с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80;

2-е введение через 7 суток после 1-го введения, вводили антиген из штамма «Т» в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 2,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3 см³ внутривенно в концентрации 49,9 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:80;

11 схема:

1-е введение – овце № 3 через 21 суток после иммунизации вводили антиген из штамма «3730 К» в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 2,5 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация ГОА 0,02 %) и 3,0 см³ внутривенно в концентрации 22,6 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:40;

2-е введение проводили через 7 суток после 1-го введения, антиген из штамма «3730 К» вводили в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 2,0 см³ в комплексе с Montanide ISA 71 VG (в соотношении 1:1) и 2 см³ внутривенно в концентрации 22,6 мг/см³, с активностью вводимого материала в РДСК – 1:40;

3-е введение проводили через 7 суток после 2-го введения. Антиген из штамма «3730 К» с активностью в РДСК 1:80 вводили в предлопаточные лимфатические узлы в объеме 6,0 см³ в комплексе с ГОА (конечная концентрация 0,02 %) в концентрации 19,5 мг/см³.

Результаты и обсуждение

По литературным данным для получения диагностических сывороток обычно используют лабораторных животных, например кроликов, белых мышей, крыс, иногда и больших животных таких как козы, овцы, крупный рогатый скот, лошадей и ослов [6, 8-14].

Первоначально нами были проведены опыты получения иммунной сыворотки крови к возбудителю ЭЛЛ на кроликах. Как указано выше, для этого были использованы 6 кроликов.

Перед каждым введением антигенов у животных отбирали пробы крови для определения динамики накопления специфических антител в РДП и РДСК.

У кроликов, использованных в исследовании, наблюдалась выраженная индивидуальная вариабельность уровня гуморального ответа на введение антигена возбудителя эпизоотического лимфангоита. Наиболее значимые показатели были зафиксированы у кролика №6, у которого отмечалась четкая динамика нарастания титров антител: в РДП — от 1:2 после первого введения до 1:32 после третьего, в РДСК — от 1:40 до 1:640. Это свидетельствовало о формировании полноценного и устойчивого иммунного ответа, отражающего эффективность выбранной схемы иммунизации.

У других животных результаты были менее выраженными. У кролика №1 титры в РДП достигали 1:4, а в РДСК - 1:80 после второго введения, с последующим снижением. Кролики №2, №4 и №5 характеризовались слабо выраженной или нестабильной сероконверсией: в РДП наблюдались значения 1:2–1:4, в РДСК- преимущественно 1:20.

Интересны были результаты, полученные у кролика №3: несмотря на стабильные, но невысокие титры в РДП (1:4), в РДСК отмечались более высокие значения — до 1:80, что может указывать на скрытый, но специфичный иммунный ответ, недостаточный для выявления осаждающих антител, но выявляемый в РДСК.

В целом, среди всех кроликов наибольшую диагностическую ценность представляла сыворотка, полученная от кролика №6, как по уровню титров, так и по стабильности специфичности. Эти данные подтверждают, что даже при использовании одного и того же антигена, индивиду-

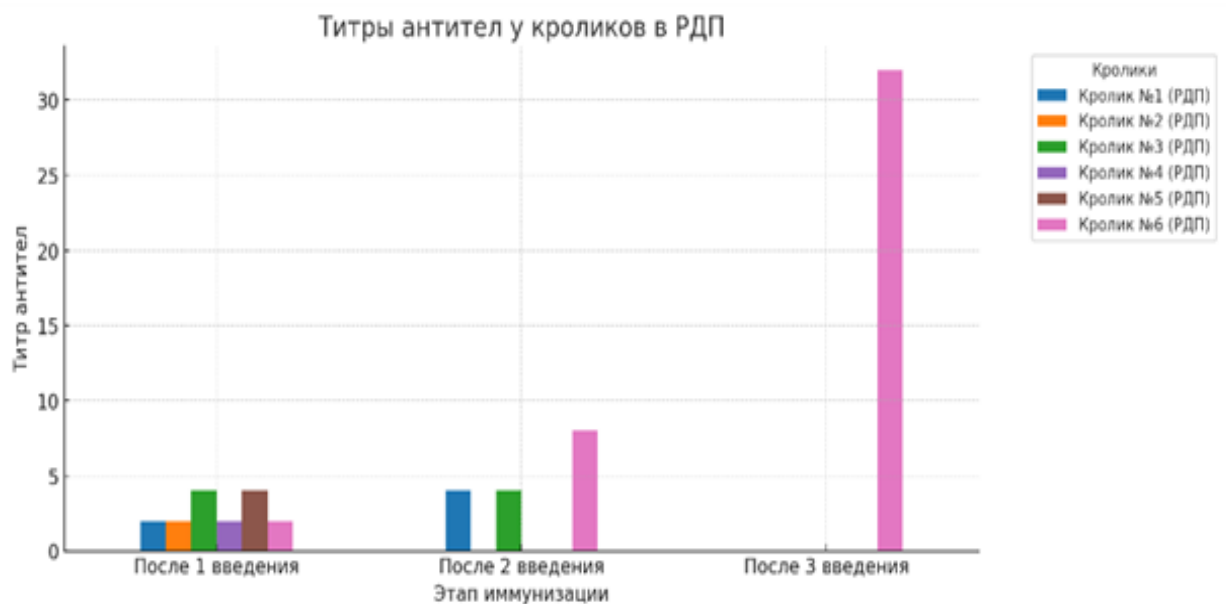


Рисунок 1. Титры антител в РДП у кроликов, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.



Рисунок 2. Титры антител в РДСК у кроликов, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.

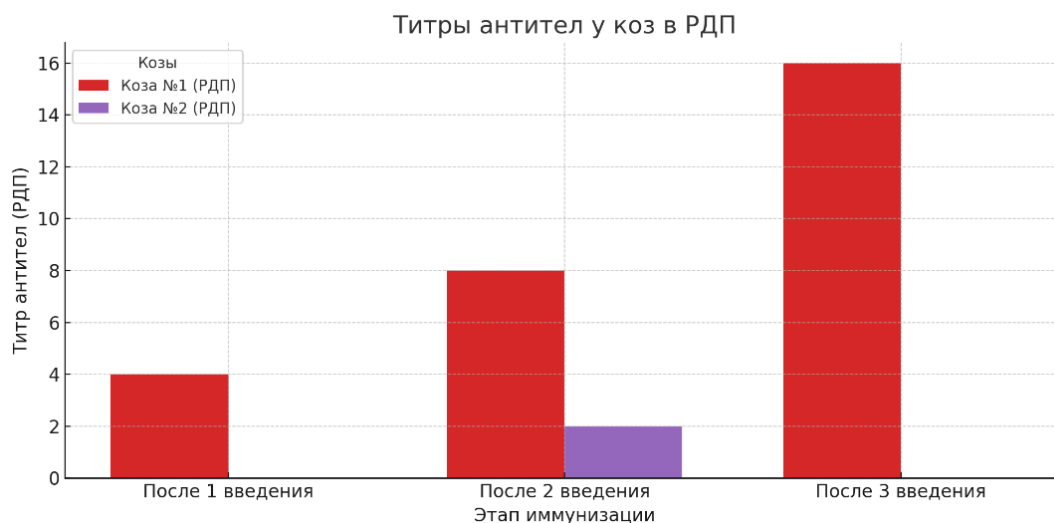


Рисунок 3. Титры антител в РДП у коз, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.

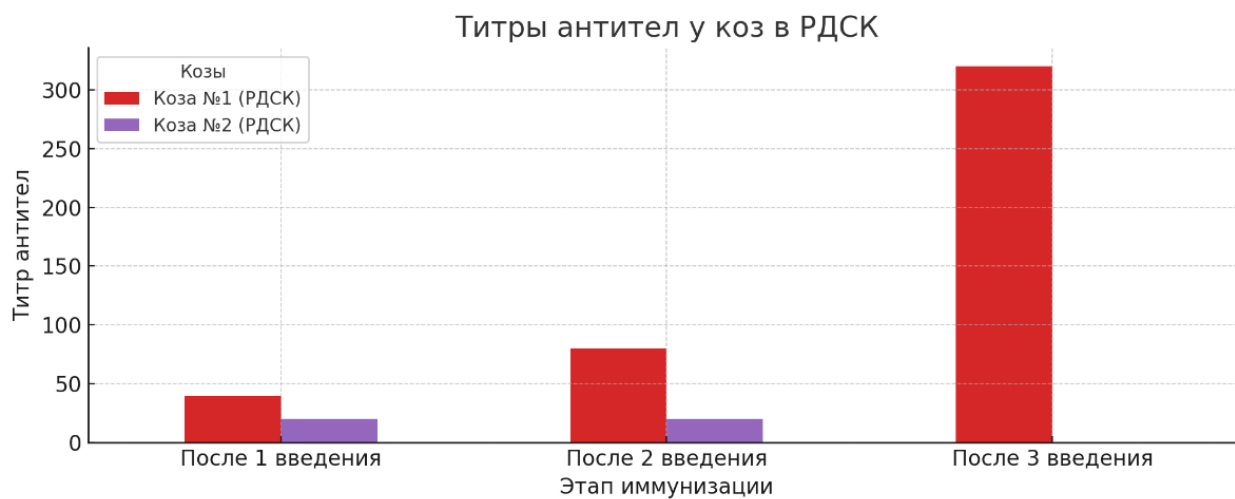


Рисунок 4. Титры антител в РДСК у коз, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.

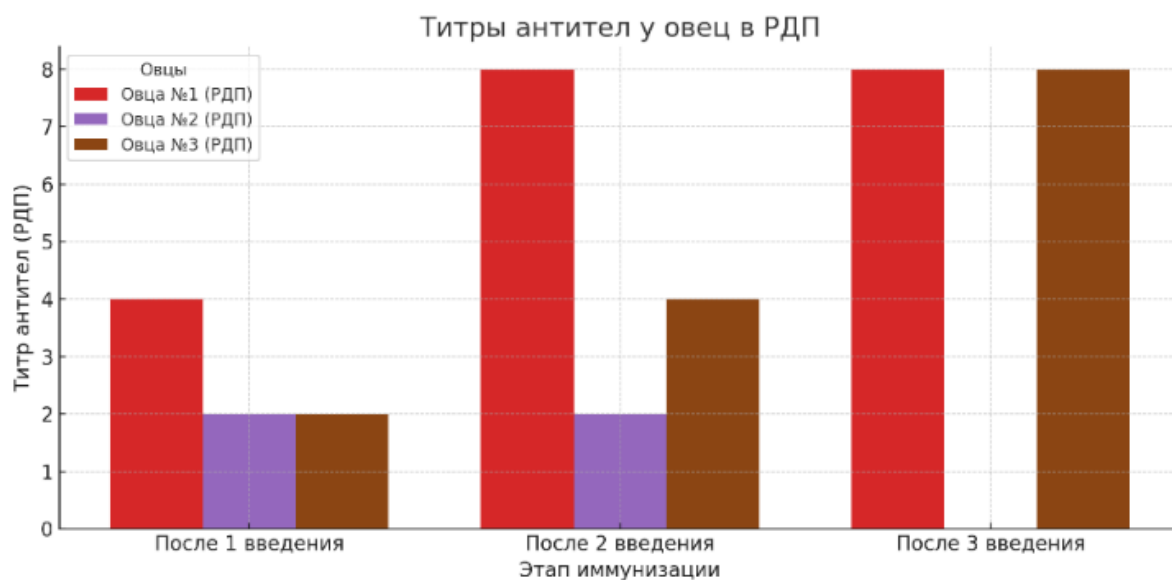


Рисунок 5. Титры антител в РДП у овец, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.

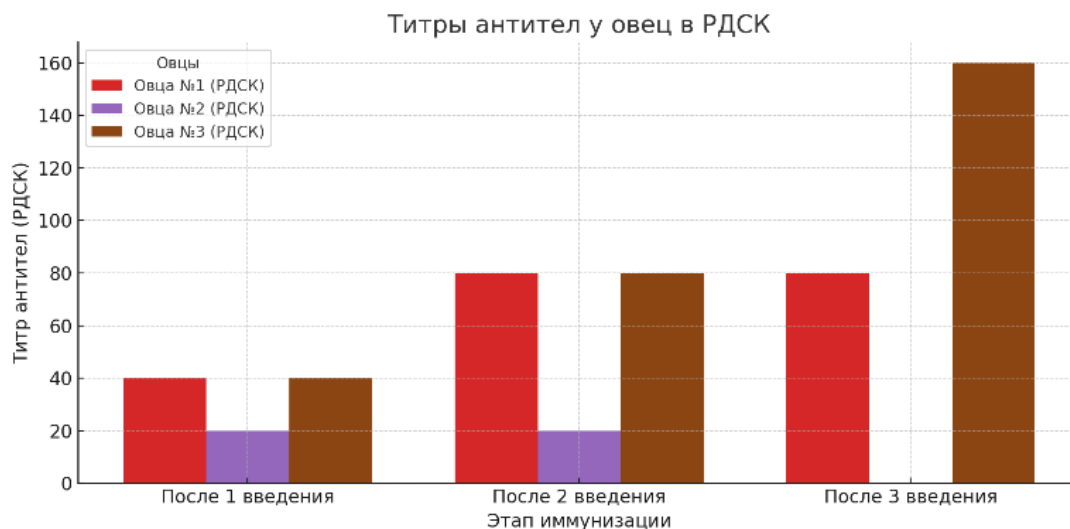


Рисунок 6. Титры антител в РДСК у овец, полученных после иммунизации антигеном возбудителя ЭЛЛ.

альные и схематические различия существенно влияют на эффективность формирования иммунного ответа. Активность и специфичность полученных специфических сывороток на кроликах представлены на рисунках 1 и 2.

У коз, участвовавших в исследовании, были получены разнонаправленные данные, отражающие различия в эффективности схем иммунизации. Наиболее выраженный иммунный ответ зарегистрирован у козы №1, у которой наблюдалось последовательное нарастание титров антител: в РДП - от 1:4 после первого введения до 1:16 после третьего, в РДСК - от 1:40 до 1:320. Такая динамика указывает на хорошо сформированный гуморальный ответ и высокую специфичность полученной сыворотки.

В отличие от козы №1, коза №2 продемонстрировала минимальную иммунную реакцию. В РДП отмечено лишь единичное значение 1:2, в то время как титры в РДСК на протяжении всего периода оставались на уровне 1:20, без признаков нарастания. Эти результаты могут указывать либо на индивидуальные особенности животного, либо на недостаточную эффективность использованной схемы иммунизации.

Активность и специфичность полученных сывороток от коз в РДП и РДСК указаны на рисунке 3 и 4.

Таким образом, из двух исследуемых коз только одна (коза №1) сформировала специфические сыворотки, пригодные для последующего использования в диагностических целях. Полученные данные подтверждают потенциальную пригодность коз в качестве продуцентов диагностических антител при условии правильного подбора схемы иммунизации.

При использовании овец для получения специфических сывороток к возбудителю ЭЛЛ результаты представлены на рисунках 5 и 6.

У овец, иммунизированных специфическим антигеном *Histoplasma farciminosum*, наблюдалась неоднородная серологическая реакция, как в РДП, так и в РДСК. Наиболее стабильный и предсказуемый иммунный ответ продемонстрировала овца №3. У неё зафиксировано поэтапное нарастание титров антител в РДП - от 1:2 до 1:8, а также в РДСК - от 1:40 до 1:160, что позволяет расценивать полученную сыворотку как специфичную и диагностически пригодную.

Овца №1 также показала умеренно выраженную сероконверсию: в РДП титр достигал 1:8, а в РДСК - 1:80. Однако максимальные значения фиксировались уже после второго введения, без дальнейшего прироста. Это может указывать на достижение пика антителообразования к данному моменту или на влияние схемы введения.

В то же время овца №2 характеризовалась низким иммунным ответом. Титры в РДП не превышали 1:2, аналогичная картина наблюдалась и в РДСК (1:20), без существенной динамики в течение всего периода наблюдения. Такие показатели свидетельствуют о недостаточной иммунизации и ограниченной пригодности полученной сыворотки.

Результаты исследования показали, что уровень специфического гуморального ответа к возбудителю эпизоотического лимфангоита (ЭЛЛ) зависит от комплекса факторов: вида животного, схемы иммунизации, кратности

введений и выбора адьюванта. Полученные данные демонстрируют, что наиболее выраженные титры антител наблюдались у кролика №6, козы №1 и овцы №3. Это позволяет рассматривать полученные от них сыворотки как потенциально диагностические.

У кролика №6, иммунизированного по схеме №6 с использованием ПАФ, наблюдался наибольший титр - 1:32 в РДП и 1:640 в РДСК. У козы №1 (схема №1, ГОА) титры достигали 1:16 и 1:320 соответственно. У овцы №3 (схема №9) наблюдалась сероконверсия до 1:8 в РДП и 1:160 в РДСК. В то же время, ряд животных, в частности кролики №2, 4, 5 и коза №2, показали низкий или нестабильный иммунный ответ, что указывает на ограниченную эффективность применённых к ним схем (№2, №4, №5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Важно отметить, что в научной литературе крайне ограничено число работ, посвящённых разработке специфических диагностических сывороток к ЭЛЛ. В частности, в исследовании Кадырова С. с соавт. [14] описано получение гипериммунной сыворотки у кроликов с использованием инактивированной вакцины на основе штамма *Cryptococcus farciminosus* F-0269 в концентрации 1×10^9 м.т. При этом суспензию смешивали 1:1 с ПАФ и вводили внутримышечно, после чего следовали две внутривенные инъекции без адьюванта. В результате титр антител в РДСК составлял 1:80. Для своего времени это был значимый результат, однако в нашем эксперименте титры, полученные у кроликов по оптимизированной схеме (№6), достигали 1:640, что существенно выше и указывает на эффективность разработанных подходов.

Испытание 11 различных схем позволило определить, что наряду с дозой и кратностью введения большое значение имеет выбор адьюванта и интервалы между инъекциями. Кроме того, важную роль играет вид животного: кролики оказались наиболее чувствительными к иммунизации, однако отдельные козы и овцы также демонстрировали высокую продуктивность в отношении выработки антител.

Сравнительный анализ методов показал, что РДСК обладает большей чувствительностью по сравнению с РДП и позволяет выявлять специфические антитела даже при их низком содержании. Это подтверждается рядом случаев, когда в РДП реакция была отрицательной или слабой, в то время как в РДСК регистрировались чёткие положительные титры. В свою очередь высокая степень согласия между двумя методами (коэффициент Коэна $k = 0.81$) подтверждает возможность их параллельного применения для комплексной оценки иммунных сывороток.

Таким образом, проведённая работа не только восполняет дефицит научных данных по теме диагностики ЭЛЛ, но и предлагает конкретные схемы иммунизации, обеспечивающие получение активных и специфических сывороток. Эти результаты могут стать основой для разработки серологических тест-систем и внедрения стандартизированных подходов к диагностике ЭЛЛ в ветеринарной практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование выявило, что наилучшие диагностиче-

ские сыворотки к возбудителю эпизоотического лимфангоита получены при схемах №6 (кролики), №1 (козы) и №9 (овцы). Эти схемы обеспечили высокие титры антител и специфичность. РДСК показала большую чувствительность, чем РДП. Полученные данные актуальны в условиях ограниченности литературы и могут быть использованы для разработки серологических тест-систем.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант №BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям»).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н., Серикбай Е.Б., Сармыкова М.К., Тилеуханов К.К., Тойтанова Л.С., Сырым Н.С. Инактивация инфекционности гриба *Histoplasma farciminosum* // International Journal of Humanities and Natural Sciences. - 2022. - № - Т.71 - № 70. - С. 151-157. doi: 10.24412/2500-1000.
2. Scantlebury C., Reed K. Epizootic Lymphangitis // Infectious Diseases of the Horse. - 2009. - P. 397-406.
3. Guslavskiy I.I. Epizootic lymphangitis and measures to combat it // Alma-Ata: Kainar. - 1990. - 15 с.
4. Sansyzbay A.R., Bizhanov A.B., Kadyrov S.O. et al. Epizootic situation of equine lymphangitis caused by *Histoplasma farciminosus* in horse breeding farms of the Republic of Kazakhstan // Materials of the international scientific-practical conference 'Modern state and actual problems of development of veterinary science and practice'. Almaty. - 2005. - С. 234-237.
5. Манжурина О.А., Скогорева А.М., Попова О.В. Технология изготовления сывороточных препаратов для ветеринарных целей. Методические указания для самостоятельной работы по дисциплине «Микробиотехнология» для обучающихся ФВМиТЖ очной и заочной форм обучения по Направлению подготовки 36.03.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза». 2016 г.
6. Дальвадянец В.Г., Лямкин Г.И., Ляпустина Л.В., Таран И.Ф., Луканина Л.М. Способ получения моносpezifических сывороток для дифференциации возбудителей бруцеллеза. Номер патента: 2104031. Опубликовано: 10.02.1998. Российское агентство по патентам и товарным знакам.
7. Фонталин Л.Н. Иммунологическая толерантность // Москва. - 1978. - 282 с.
8. Lefèvre P.C, Diallo A. Peste des petits ruminants // Rev Sci Tech.-1990.- Vol. 9. - №4. - P. 935-81. doi: 10.20506/rst.9.4.532.
9. Obi T. U. The production of peste des petits ruminants hyperimmune sera in rabbits and their application in virus diagnosis // Zentralbl Veterinarmed B. - 1990. -

Vol. 37. - №5. - P. 345-352. doi: 10.1111/j.1439-0450.1990.tb01068.x.

10. Nahed A.K., Hanan S.A., Hanan M.S., Laila A.S., Fatma S.M. The production and evaluation of a standard diagnostic peste des petits ruminants (PPR) hyperimmune serum prepared from the Egyptian antigen (Egypt 87) // Egypt J. Immunol. - 2004. - Vol.11. - №1. - P. 9-14.

11. Johnston B.A., Eisen H., Fry D. An evaluation of several adjuvant emulsion regimens for the production of polyclonal antisera in rabbits // Lab Anim Sci. - 1991. - Vol. 41. - №1. - P. 15-21.

12. Мишакова М.В. Получение сывороток анти-Р иммунизацией животных эхинококковым аллергеном // Судебно-медицинская экспертиза. Москва. - 1963.- №4.- С. 34-37.

13. Константинова Е.А., Блотова Г.А., Старов С.К., Константинов А.В., Диев В.И. Получение специфической сыворотки крови животных для диагностики эфемерной лихорадки крупного рогатого скота // Ветеринарная патология. - №3. - 2011. - С. 93-96.

14. Кадыров С.О., Шалабаев Б.А., Умитжанов М. Способ получения гипериммунной сыворотки против эпизоотического лимфангоита лошадей. Номер инновационного патента №25400. Опубликовано: 16.01.2012. QAZPATENT. Национальный институт интеллектуальной собственности.

REFERENCES

1. Espembetov B.A., Zinina N.N., Serikbay E.B., Sarmykova M.K., Tilekhanov K.K., Toitanova L.S., Syrym N.S. Inactivation of infectivity of the fungus *Histoplasma farciminosum* // International Journal of Humanities and Natural Sciences. - 2022. - Vol. 71. - № 70. - С. 151-157. doi: 10.24412/2500-1000.
2. Scantlebury C., Reed K. Epizootic Lymphangitis // Infectious Diseases of the Horse. - 2009. - P. 397-406.
3. Guslavskiy I.I. Epizootic lymphangitis and measures to combat it // Alma-Ata: Kainar. - 1990. - 15 с.
4. Sansyzbay A.R., Bizhanov A.B., Kadyrov S.O. et al. Epizootic situation of equine lymphangitis caused by *Histoplasma farciminosus* in horse breeding farms of the Republic of Kazakhstan // Materials of the international scientific-practical conference 'Modern state and actual problems of development of veterinary science and practice'. Almaty. - 2005. - С.234-237.
5. Manzhurina O.A., Skogoreva A.M., Popova O.V. Technology of manufacturing serum preparations for veterinary purposes. Methodological guidelines for independent work on the subject «Microbiotechnology» for students of the Faculty of Veterinary Medicine and Biotechnology of full-time and part-time education in the direction of training 36.03.01 «Veterinary and Sanitary Expertise». 2016 y.
6. Dalvadyants V.G., Lyamkin G.I., Lyapustina L.V., Taran I.F., Lukanina L.M. Method for obtaining monospecific sera for differentiating brucellosis pathogens. Patent number: 2104031. Published: 10.02.1998. Russian Patent and Trademark Agency.

7. Fontalin L.N. Immunological tolerance // Moscow. - 1978. - 282 p.
8. Lefèvre P.C, Diallo A. Peste des petits ruminants // Rev Sci Tech. - 1990. - Vol. 9. - №4. – P. 935-81. doi: 10.20506/rst.9.4.532.
9. Obi T. U. The production of peste des petits ruminants hyperimmune sera in rabbits and their application in virus diagnosis // Zentralbl Veterinarmed B. - 1990. – Vol. 37. - №5. - P. 345-352. doi: 10.1111/j.1439-0450.1990.tb01068.x.
10. Nahed A.K., Hanan S.A., Hanan M.S., Laila A.S., Fatma S.M. The production and evaluation of a standard diagnostic peste des petits ruminants (PPR) hyperimmune serum prepared from the Egyptian antigen (Egypt 87) // Egypt J. Immunol. – 2004. – Vol.11. - № 1. – P. 9-14.
11. Johnston B.A., Eisen H., Fry D. An evaluation of several adjuvant emulsion regimens for the production of polyclonal antisera in rabbits // Lab Anim Sci. – 1991. – Vol. 41. - № 1. – P. 15-21.
12. Mishakova M.V. Obtaining anti-P serums by immunizing animals with echinococcal allergen // Forensic medical examination. Moscow. - 1963. - №.4.- P. 34-37.
13. Konstantinova E.A., Blotova G.A., Starov S.K., Konstantinov A.V., Diev V.I. Obtaining specific animal blood serum for diagnostics of ephemeral fever in cattle // Veterinary pathology. - 2011. - №3. - P. 93-96.
14. Kadyrov S.O., Shalabaev B.A., Umitzhanov M. Method for obtaining hyperimmune serum against equine epizootic lymphangitis. Innovative patent number: 25400. Published: 16.01.2012. QAZPATENT. National Institute of Intellectual Property.

**ЖЫЛҚЫЛАРДЫҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЛИМФАНГОИТ ҚОЗДЫРҒЫШЫНА ҚАРСЫ
ЖАНУАРЛАРДЫҢ ҚАН САРЫСУЫН АЛУ**

Абдураимов Е.О.², Каукарбаева М.Ж.^{1*}, Рсалиев А.С.², Умуралиев Б.К.¹, Исахан А.А.¹, Оразымбетова Н.К.¹,
Абеуов Х.Б.¹, Кондибаева Ж.Б.¹, Кошеметов Ж.К.¹, Наханов А.К.¹, Жақыпбек А.С.¹

¹Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты,
Гвардейский, Қазақстан

²QazBioPharm Ұлттық холдингі АҚ Астана, Қазақстан
Корреспондент автор- m.kaukarbayeva@biosafety.kz

АБСТРАКТ

Арнайы қан сарысуын алу үшін жануарларды таңдау маңызды кезең болып табылады. Иммундау алдында басқа вирустық және бактериялық инфекцияларға қарсы антиденелерді иммунді ферменттік талдау, диффузды преципитациялық әдіспен (ДПӨ) және ұзақ мерзімді комплементті байланыстыру әдістерімен (ҰКБӨ) анықтау үшін донорлардан қан үлгілері алынды. Тәнді қан сарысуын алу үшін қолданылатын қояндардың, ешкілердің және қойлардың қан сарысуларында жылқының эпизоотиялық лимфангитіне, ұсақ күйіс қайыратындардың обасына, қой шешекке және сібір жарасының қоздырғыштарына антиденелер анықталмағаны тәжірибе жүзінде дәлелденді. Бұл алынатын иммундық сарысулардың серологиялық әдістерде қарама қайшы реакция бермес үшін қажет. Тәнді сарысуларды алу үшін тәжірибеде ДПӨ-те 1:16-1:32 және ҰКБӨ -де кемінде 1:40-1:80 белсенділігі бар «Т», «3724 К» және «3730 К» штамдарынан тазартылып дайындалған антигендер қолданылды.

Тәнді сарысуды алу үшін иммундау әдістері, енгізілген антигеннің қоюлылығы және көлемі, енгізу арасындағы мерзімдер мен енгізу үшін қолданылатын әртүрлі штамдары бойынша ерекшеленетін 11 иммундау жүйесі сыналды.

Тәжірибе арқылы біз қоян, ешкі және қойлардан тәнді және белсенді сарысулар ала алдық. № 6 ДПӨ қоянында алынған иммундық сарысулардың белсенділігі 1:32, ҰКБӨ -те - 1:128, № 1 ешкіде ДПӨ - 1:16, ҰКБӨ -те 1:64 және №1 қойда ДПӨ-те - 1:8, ҰКБӨ-те 1:32 болды.

Бұл диагностикалық сарысулар зерттелетін биологиялық материалдардағы **жылқылардың эпизоотиялық лимфангоит** қоздырғышының антигенін анықтау үшін зертханалық әдістерді қою кезінде пайдаланылады.

Негізгі сөздер: жылқының эпизоотиялық лимфангиті, тәнді сарысу, гипериммундеу, штамм, тазартылған антиген.

**OBTAINING SPECIFIC ANIMAL BLOOD SERUM TO THE CAUSATIVE AGENT OF EPIZOOTIC
LYMPHANGOITIS IN EQUINES**

Abduraimov E.O.², Kaukarbayeva M.Zh.^{1*}, Rsaliev A.S.², Umuraliev B.K.¹, Isakhan A.A.¹, Orazimbetova N.K.¹, Abeuov Kh.B.¹, Kondibaeva Zh.B.¹, Koshemetov Zh.K.¹, Zhakypbek A.S.¹, Nakhanov A.K.¹

¹Research Institute for Biological Safety Problems, Gvardeisky, Kazakhstan

²JSC National Holding QazBioPharm Astana, Kazakhstan
author-correspondent: m.kaukarbayeva@biosafety.kz

ABSTRACT

Selection of animals for obtaining specific blood serums is an important step. Before the start of immunization, blood samples were taken from potential donors for testing using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), diffusion precipitation reaction (DPR) and prolonged complement fixation reaction (PCFR) to detect antibodies to other viral and bacterial infections. It has been experimentally established that antibodies to the pathogens of equine epizootic lymphangitis (ELL), peste des petits ruminants, sheep pox and anthrax were not detected in the blood serum of rabbits, goats and sheep used to obtain specific blood serum. This is necessary to exclude possible cross-reactions when using the obtained immune sera in serological reactions. To obtain specific sera in the experiment, purified antigens of the cultures of strains “Т”, “3724 К” and “3730 К” of the causative agent of ELL were used, which have activity in the RDP within the range of 1:16-1:32 and in the RSC of at least 1:40-1:80.

To obtain a specific serum, 11 immunization schemes were tested, which differed in the methods of immunization, the concentration and volume of the administered antigen, the intervals between administrations, and the different strains of diseases used to administer them.

Experimentally, we managed to obtain specific and active serums from rabbits, goats and sheep. The activity of immune serums in rabbit #6 DPR was 1:32, in PCFR – 1:128, goat #1 in DPR – 1:16, in PCFR 1:64 and sheep #1 in DPR 1:8, in PCFR 1:32. These diagnostic serums will be used to establish laboratory methods for detecting the antigen of the ELL pathogen in the biological materials being studied.

Key words: equine epizootic lymphangitis, specific serum, hyperimmunization, strain, purified antigen.