

Конбаева Г.М., Сырым Н.С., Акматова Э.К., Елекеев Т.А.

**ГИПЕРИММУНДИ ҚАНСАРЫСУЫН АЛУ ҮШІН ӘР ТҮРЛІ ӘДІСТЕРМЕН
ҚОЯНДАРДЫ ИММУНДЕУ**

Конбаева Г.М., Сырым Н.С., Акматова Э.К., Елекеев Т.А.

**ИММУНИЗАЦИЯ КРОЛИКОВ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ
ГИПЕРИММУННЫХ СЫВОРОТОК**

G.M. Konbaeva, N.S. Syrym, E.K. Akmatova, T.A. Elekeev

**IMMUNIZATION OF RABBITS BY VARIOUS METHODS FOR THE PRODUCTION OF
HYPERIMMUNE SERA**

УДК: 619: 615.373

Фрейдтің жартылай адьювантың антигенге араластырып қолдану, иммунделген қолдардың қанындағы антидененің титрінің басқалармен салыстырғандағы көрсеткішінің жоғары болуын қамтамасыз ететіндігі анықталды.

Түйінді сөздер: микобактериялар гипериммунизациялау, қан сарысуы, қоян, Фрейдтің адьюванты, иммундау, екпе.

С применением антигена, смешанного с неполным адьювантом Фрейнда, его простоту и удобство применения, а также быстроту проведения полного цикла иммунизации, можно рекомендовать его в качестве основного при проведении аналогичных исследований.

Ключевые слова: микобактерий, гипериммунная сыворотка, кролики, адьювант Фрейнда, иммунизация, инъекция.

It is determined that application of incomplete adjuvant of Freund provides higher credit of antibodies in blood of immunized rabbits, in comparison with other methods.

Key words: mycobacteria, hyperimmune serum, rabbits, Freund's adjuvant, immunization, injection.

Тақырыптың өзектілігі

Ветеринариялық тәжірибеде туберкулез ауруы басты індет ретінде ерекше маңызы зор және шаруашылықтардағы эпизоотологиялық жағдайды қалыптастыруда айтарлықтай әсер етеді.

Алайда туберкулезді балаудағы классикалық туберкулиндік сынама әдісі әлсіздеу, микобактериялар өсінділерің барлық түрлеріне болса да (патогенді немесе атипті түрлері) көп жағдайда оң нәтиже көрсетеді, жалпы бұл жануарлар ағзасындағы микобактерия агенттерінің сенсбилизациялануынан туған реакция болуды да мүмкін. Бұл сирек жағдай емес, туберкулинге оң нәтиже берген жануарларды паталогоанатомиялық тексеруде туберкулезге тән емес эхонкоккозға зақымдалғаны да анықталаған [1, 2].

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, туберкулез ауруын жоғары деңгейде әоі жылдам анықтайтын балауды әзірлеу өзекті мәселе болып болып табылады.

Қолданылатын материалдар мен зерттеу әдістері

Зерттеу кезінде салмағы 2-2,5 кг 60 қоян, микобактериялардың *M. bovis* пен *M. avium* өсінділері пайдаланылды және серологиялық ИФТ-ның тікелей емес әдісі қолданылды.

Микобактериялардан антиген дайындауда, дезинтеграциялау үшін жоғары жиіліктегі ультрадыбысты УЗДН-А қолданылды. 40 см³ дистилденген суда 60 мг/см³ қоймалжыңдағы микобактерия өлшемін дайындап, еріксіз су салқындатқышы бар арнайы ыдысқа салып, УЗДН-А 22 кГц тербеліс ультрадыбыстық толқынында 10 мин жасуша қабырғасы бұзылады.

Зерттелетін сынамадағы белок концентрациясы S-30 ВОЕСО спектрофотометрін қолдану арқылы анықталды.

Антиген мен толық емес Фрейдтің жартылай адьювантының қоспасын қолданып, қояндар гипериммунделді.

Зерттеу нәтижелері

Аталған сынақты жүзеге асыру үшін тәжірибелік қояндардың қанынан гипериммунді сарысу алуға сынақ жүргізілді. Біз жоғарғы титрмен сарысу алу үшін иммундеу әдісінің әртүрін сынап көрдік.

Алғашқыда Б.Н. Козьмин-Соколов [3] әдісін қолдандық. Бұл әдістің мәні иммундеудің екі циклын жүргізу болып табылады, әрқайсысы 4 тамырішіне егуді қосады (құлақ шетіндегі тамырға жасалады).

Бірінші екпе 0,5 см³ микобактерияның қоймалжыңы 1 атм 90 мин автоклав арқылы зарарландырып, 800 об/минта 30 мин екі рет центрифугадан және 22 кГц режимінде 10 мин ультрадыбыстық тербелістен өткен.

Екінші екпеден бастап антигеннің көлемі 1 см³ құрады. Екпе 3 күннен кейін екі циклды иммундеу, әр цикл арасы 1 айдан жүргізілді. Гипериммундеуден 3 апта өткеннен кейін қансарысуын дайындау үшін қан алынды.

Б.Н. Козьмин-Соколов әдісімен иммунделген қансарысуларын иммундеу циклі аяқталғаннан кейін ИФТ реакциясымен талдағанда, қояндардан олар-

дагы антидене өте төмен титр көрсетті, бакылау титрі ретінде алынған сынамада 1:2 ден аспады.

Қолдану схемасы күрделі әрі қиын осы тәжірибеден алынған нәтиже қанағаттандырақсыз деп танылып, бұл иммундау әдісінен бас тартуға және имундеудің басқа неғұрлым тиімді ыңғайлы жолдарын іздестіруге басты себеп болды.

М.В. Макаров [4] ұсынған иммундеу әдісімен тәжірибе мақсатында қолдандық. Осы әдіс қояндарды иммундеуде, жоғарыда айтылып өткен схема бойынша дайындалған антигенді, омыртқа бойымен қатарынан алты нүктеге тері астына енгіздік.

Енгізілетін антигеннің көлемі әрбір қоян үшін 3 см³ді құрады, жалпы 0,5 см³ әр 6 нүктеге егілді. Иммундеу екі циклда жүргізілді. Әр иммундеу циклы екі апта аралығында үш енгізуден тұрады. Екі циклдың арасы 1 айды құрады.

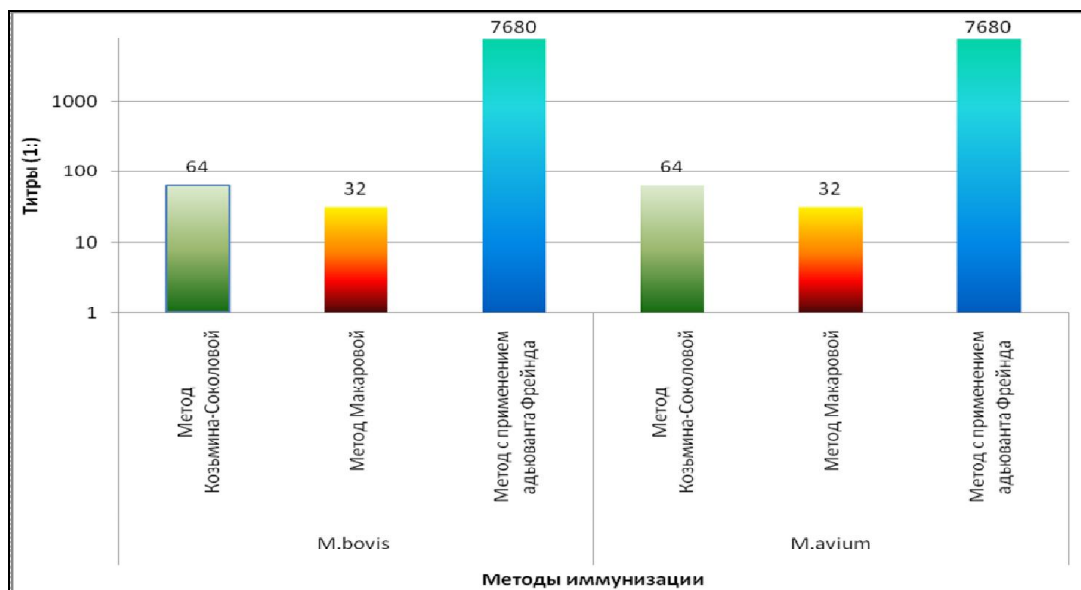
Қан Б.Н. Козьмин-Соколовтың әдісін қолданғандай 3 аптадан кейін соңғы иммундеу циклы аяқталған соң алдынды. Бұл әдістің жоғарғы әдістен айырмашылығы қарапайымдылығы мен қолдануға ыңғайлылығы, тіпті иммундау уақыты ұзақ болсада (3 айға қарағанда 50 күн). М.В. Макарованың айтуы

бойынша бұл әдіс жоғары титрлі гипериммунді сарысу алуды қамтамасыз етеді.

Алайда М.В. Макаровтың әдісімен жүргізген қояндарды иммундеу оң нәтиже бермеді, алынған сынақтық сарысулардан ИФТ қою барысында төмен титрлі, 1:4-1:8 дейінге ғана антидене тіркелді.

Әрі қарай қояндарды иммундеуді Harboe N., Ingild A. [5] сипаттаған әдіспен жүргізілді, концентрациясы 2-4 мг/см³ дярланған антигенге 1:1 Фрейдтің жартылай адьюванты қосылған сұйықтық дайындалып, 1-ші, 14-ші, 28-ші және 43-ші күндері 1 см³ көлемінде антиген сұйықтығымен қояндар иммунделді. Иммундеу жаурын үстіндегі теріге 8-10 нүктеге енгізу арқылы жүргізілді. 50-күн өткенде құлақ тамырынан қан алынып, алынған қансарысу деңгейі ИФТ әдісімен тексерілді.

Нәтижесінде сарысудың антидене титрі 1:2 сұйылтуда – 1:7680 ге тең, ал 1:100-1:6400 ге дейін барғаны анықталды. Антидене титрін әртүрлі иммундеу тәсілдерімен қолданған кездегі *M. bovis* және *M. avium* өсінділерінің антигенін пайдаланылуы төмендегі суретте көрсетілген.



Сурет 1. Әртүрлі иммундеу әдістерінің нәтижесі: 1 – әдіс Козьмин-Соколов; 2 – әдіс Макарова; 3 – әдіс N. Harboe, A. Ingild

Бұл антигенге Фрейдтің жартылай адьювантын қосып қояндарды иммундеу әдісі, пайдалануға жеңілділігі мен иммундеу нәтижесінің жоғарылығы ғылыми-зерттеу институттар мен ветеринария зертханаларындағы мамандарының қолдануына өте тиімділігін көрсетеді.

Сонымен қатар сынақтағы қояндарды өзіміз дярлаған антигенге Фрейдтің жартылай адьювантын қосып иммундеу әдісінің жоғары тиімділігін, оның қолдануда ыңғайлы қарапайым, сондай-ақ толық иммундеу циклын жүргізгенде жылдамадығын ескере отырып, оны негізгі зерттеулерде қолдануға ұсынуға болады.

Рецензент: к.вет.н. Зинина Н.Н.

Әдебиеттер:

1. Тургенбаев К.А. Диагностика туберкулеза животных. – Алматы, 2001. - С. 93.
2. Сырым Н.С., Тургенбаев К.А., Жанузаков А.Н. Разработка и применение новых методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота // Вита-СТ, 2005.
3. Якупов Т.Р. Иммуноферментный анализ в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Казань, 1991. - С. 35.
4. Макарова М.В. Идентификация *M. bovis*, *M. avium*, *M. kansasii*, *M. smegmatis* с помощью моноспецифических антисывороток: автореф. дис. ... к.б.н.– М., 1991.-С. 23.
5. Harboe N., Ingild A. Immunization, isolation of immunoglobulins, estimation of antibody titre // Scand J. Immunol. Suppl. – 1993. - P. 1:161-164.