

## Образование антител у северного оленя, инфицированного *Mycobacterium bovis*

Эдуард Аркадьевич Шуралев, к.в.н., доцент кафедры, eduard.shuralev@mail.ru

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»

Мультиплексным иммуноферментным анализом с хемилюминесцентной меткой определили значение микобактериальных антигенов для диагностики туберкулеза северных оленей. Установили, что мажорными иммуногенами *M. bovis* для северного оленя являются MPB70, MPB83 и PPD-b. Титры антител к ранним секретируемым антигенам бактерии (Rv3616c, ESAT-6 и CFP-10) по мере развития инфекции претерпевают периодические колебания. В отдаленные сроки после заражения *M. bovis* туберкулиновая реакция провоцирует выработку специфических антител.

**Ключевые слова:** антигены, антитела, микобактерии, мультиплексный иммуноферментный анализ, туберкулез.

### Antibody response on *Mycobacterium bovis* infected reindeer

E.A. Shuralev

Using multiplex immunoassay the significance of mycobacterial antigens for diagnosis of reindeer tuberculosis determined. It was established that majeure antigens are MPB70, MPB83 and PPD-b. After the skin test at the later stages of infection the antibody production is activated.

**Key words:** antigens, antibodies, mycobacteria, multiplex immunoassay, tuberculosis.

В последние годы наметился прорыв в области серологической диагностики туберкулеза [10, 12]. Результаты проведенных ранее исследований [1] указывают на перспективы использования более 70 рекомбинантных белков и синтетических пептидов для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота [4] и других видов животных, в том числе барсука [6], кабана [2], альпаки [7], вапити [3] и др.

Разные виды семейства Оленевых являются резервуаром возбудителя туберкулеза бычьего вида *Mycobacterium bovis* в природе, а разводимые в хозяйствах составляют популяцию риска [5]. Проблема прижизненной серологической диагностики туберкулеза у них актуальна для многих стран [8, 11]. Северный олень (*Rangifer tarandus*), распространенный в северной части Евразии и Северной Америки, где его называют карибу, как и другие представители семейства подвержен риску заражения туберкулезом, что зачастую проявляется бактерионосительством. Туберкулиновая проба не всегда эффективна, что диктует необходимость поиска более точного прижизненного теста диагностики туберкулеза.

CervidTB STAT-PAK (ChemBio Diagnostic Systems, США) – высокоэффективный диагностикум с чувствительностью 75 – 96 % и специфичностью 60 – 100 % [9].

Цель работы – определить диагностическую значимость микобактериальных антигенов для выявления инфицированных *M. bovis* северных оленей.

**Материалы и методы.** Исследования провели в серологической лаборатории компании Enfer Scientific (Ирландия) согласно договору о сотрудничестве с Институтом экологии и природопользования (г. Казань).

Специалисты из USDA предоставили следующие образцы сыворотки крови: от 4 интактных не инфицированных *M. bovis* северных оленей; от 11 карибу, экспериментально зараженных штаммом 1315 *M. bovis*, интратонзиллярно в дозе  $10^5$  КОЕ (пробы крови у них брали периодически в течение года); от 13 северных оленей из 2 благополучных по туберкулезу территорий.

Антитела к различным антигенам *M. bovis* (MPB70пер, rMPB83, CFP-10пер, rCFP-10, rMPB70, ESAT-6пер, rRv3616c, solPPD-b, rESAT-6) выявляли, используя мультиплексный формат иммуноферментного анализа с хемилюминесцентной меткой, который проводили по описанной ранее методике [5], оценивая титр антител в относительных световых единицах RLU.

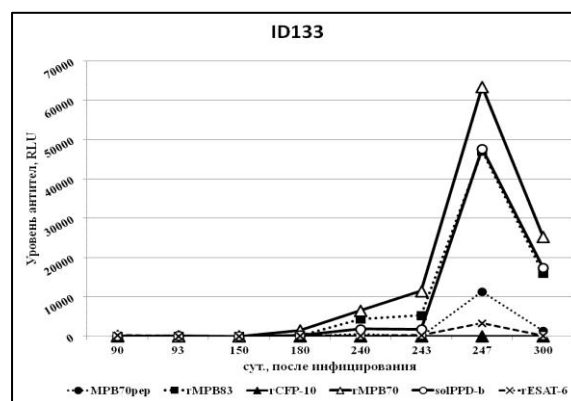
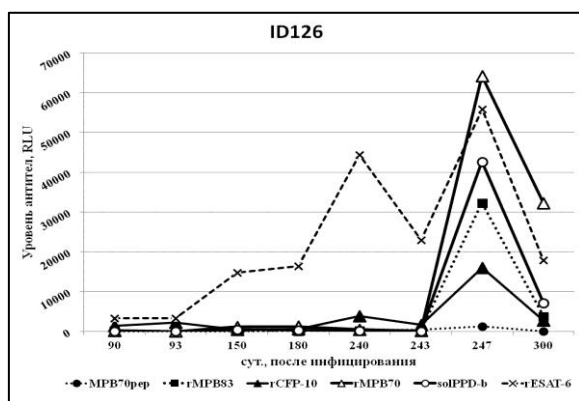
**Результаты исследований и обсуждение.** При тестировании сыворотки крови 13 северных оленей из благополучных по туберкулезу территорий в мультиплексном иммуноферментном анализе только в 2 случаях зарегистрировали слабо положительную реакцию на наличие антител к ранним секретируемым антигенам ESAT-6 и CFP-10, не более 1500 и 3000 RLU соответственно. Превышения фонового значения (500 RLU) реактогенности сывороток с антигеном Rv3616c не обнаружили ни у одного животного. У 3 оленей установили диагностически значимые уровни сигналов обнаружения антител к антигенам жизненного цикла *M. bovis*: у 2 к MPB70 и у 1 к MPB83 (максимальная интенсивность реакции не превышала 2500 RLU). Только в 1 сыворотке отметили превышение порога фонового значения (500 RLU) к антигенному комплексу PPD-b. Полученные результаты указывают на отсутствие неспецифических реакций сыворотки крови северных оленей к исследуемым антигенам.

У интактных животных контрольной группы следовые значения сигналов к исследуемым антигенам в течение всего периода наблюдения не превышали 2500 RLU (в большинстве случаев они были ниже фонового значения – 500 RLU). Внутривенная туберкулиновая проба, которую провели дважды (на 90-й и 240-й дни эксперимента), не вызвала в течение 3 – 7 дней повышения уровня специфических сывороточных антител.

Сероконверсия к антигенам *M. bovis* у экспериментально зараженных оленей проявлялась неодинаково (см. таблицу). По аналогии с результатами опытов, проведенных на других видах животных [1, 2, 4, 5, 7], можно предположить, что причиной этого послужили индивидуальные особенности течения инфекционного процесса при туберкулезе. У большинства оленей обнаружили антитела к антигенам MPB70, MPB83 и PPD-b, которые выступают как мажорные для данного вида животных. Антитела к другим (минорным) антигенам выявили только у части инфицированных животных. Тем не менее, как показали проведенные на других видах животных исследования, их детекция облегчает диагностику разных стадий инфекции.

**Таблица 1. Частота обнаружения антител к антигенам *M. bovis* у северных оленей в динамике экспериментальной инфекции**

Антиген	Срок после заражения, сут				
	90	150	180	240	300
MPB70пер	0	0	0	4	1
rMPB83	0	1	1	9	9
CFP-10пер	0	0	0	1	0
rCFP-10	1	0	0	2	2
rMPB70	3	6	7	10	10
ESAT-6пер	0	0	0	2	0
rRv3616c	0	0	0	0	0
solPPD-b	0	0	1	9	9
rESAT-6	1	2	2	5	4



**Рис. 1. Образование антител к разным антигенам *M. bovis* у 2 (№126; №133) экспериментально зараженных карibu**

На рисунке показана динамика образования специфических антител по мере развития туберкулезной инфекции у 2 экспериментально зараженных *M. bovis* северных оленей (№ 126 и 133).

Анализ этих данных подтверждает значимость комплексной серологической диагностики туберкулеза, основанной на выявлении нескольких антител возбудителя. Эту задачу облегчает применение мультиплексного иммуноферментного анализа, позволяющего одновременно выявлять антитела к разным антигенам.

Необходимо отметить тот факт, что туберкулиновая реакция в поздние сроки инфекционного процесса активизировала выработку специфических антител к антигенам МРВ70, МРВ83 и РРД-б, что проявилось резким подъемом их титра на 7-е сутки после введения животным аллергена.

**Заключение.** Установлена высокая диагностическая значимость сероконверсии северных оленей к антигенам МРВ70, МРВ83 и РРД-б *M. bovis*. Титры антител к ранним секретируемым антигенам бактерии (Rv3616с, ESAT-6 и CFP-10) по мере развития инфекции претерпевают периодические колебания. Туберкулиновая реакция провоцирует выработку специфических антител в отдаленные сроки после заражения *M. bovis*.

## Литература

1. Шуралев Э.А., Ндайишимийе Э.В., Мукминов М.Н. К вопросу серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. Ученые записки КГАВМ им. Н.Э.Баумана. 2012; 211:202 – 206.
2. Шуралев Э.А. Сравнительный анализ тест-систем для диагностики туберкулеза у альпак. Ветеринарный врач. 2012; 5:30 – 33.
3. Шуралев Э.А. Микобактериальные антигены: синтетические пептиды и рекомбинантные белки. Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. 2013; 216; 403 – 407.
4. Шуралев Э.А., Мукминов М.Н., Валеева А.Р. и др. Мультиплексный ИФА с хемилюминесцентной меткой для диагностики туберкулеза у кабанов. Ветеринария. 2013; 2: 25 – 28.
5. Шуралев Э.А., Мукминов М.Н., Велан К., Кларк Дж. Выявление специфических антител у вапиги при туберкулезе. Ветеринария. 2013; 8: 54 – 57.
6. Шуралев Э.А., Ндайишимийе Э.В., Мукминов М.Н. и др. Факторы риска и индикация *Mycobacterium bovis* на территориальном уровне. Ученые записки КГАВМ им. Н.Э.Баумана. 2013; 215: 367 – 371.
7. Шуралев Э.А. Предварительные результаты изучения антителогенеза у барсуков при экспериментальном туберкулезе. Ученые записки КГАВМ им. Н.Э.Баумана. 2015; 221:261 – 266.
8. Brook R.K., Wal E.V., van Beest F.M., McLachlan S.M. Evaluating use of cattle winter feeding areas by elk and white-tailed deer: implications for managing bovine tuberculosis transmission risk from the ground up. Prev. Vet. Med. 2013; 108(2 – 3):137 – 147.
9. Buddle B.M., Wilson T., Denis M. et al. Sensitivity, specificity, and confounding factors of novel serological tests used for the rapid diagnosis of bovine tuberculosis in farmed red deer (*Cervus elaphus*). Clin. Vaccine Immunol. 2010; 17(4): 626 – 630.
10. Harrington N.P., Surujballi O.P., Prescott J.F. et al. Antibody responses of cervids (*Cervus elaphus*) following experimental *Mycobacterium bovis* infection and the implications for immunodiagnosis. Clin. Vaccine Immunol. 2008; 15(11):1650 – 1658.
11. Walter W.D., Anderson C.W., Smith R. et al. On-farm mitigation of transmission of tuberculosis from white-tailed deer to cattle: literature review and recommendations. Vet. Med. Int. 2012; ID 616318.
12. Waters W.R., Stevens G.E., Schoenbaum M.A. et al. Bovine tuberculosis in a Nebraska Herd of farmed elk and fallow deer: a failure of the tuberculin skin test and opportunities for serodiagnosis. Vet. Med. Int. 2011; ID 953985.