

ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ РЕАКЦИЯ КАК МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕННОГО РОДСТВА РАЗНЫХ ВИДОВ ГЕЛЬМИНТОВ

В.К. БЕРЕЖКО

доктор биологических наук

Л.А. НАПИСАНОВА, К.А. ХАЙДАРОВ, А.А. ТХАКАХОВА

кандидаты биологических наук

Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии

им. К.И. Скрябина,

117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: amina7161@yandex.ru

Иммуноферментную реакцию (ИФР) можно использовать в качестве метода установления антигенного родства между различными видами гельминтов на основе реакции антиген-антитело в гомологичном и гетерологичном вариантах с гипериммунными сыворотками к каждому виду. Установлены различия в реактивности кроликов к антигенам соматических экстрактов из половозрелых *Dirofilaria immitis* и *Setaria labiato-papillosa* в ИФР различным титром специфических антител и уровнем оптической плотности (ОП). Показатели ОП в гомологичном варианте ИФР с гипериммунными сыворотками к антигенам экстракта из *D. immitis* и *S. labiato-papillosa* были выше, чем в гетерологичной системе. При сопоставлении показателей ОП в обоих вариантах ИФР установлено, что более 50 % синтезируемых антител у кроликов, иммунизированных белковыми экстрактами из диروفиларий и сетарий, вступают в реакцию антиген-антитело с гетерологичным антигеном. В результате последующего иммунохимического анализа белковых экстрактов из обоих видов паразитов с сыворотками зараженных *D. immitis* собак определили наличие в экстракте из *S. labiato-papillosa* диагностически значимых антигенных компонентов при диروفилариозе. Половозрелых *S. labiato-papillosa* можно использовать в качестве источника антигена при диروفилариозе собак.

Ключевые слова: иммуноферментный тест, диروفиларии, сетарии, гипериммунная сыворотка, антигенное родство.

Установление серологического родства между гельминтами-представителями разных систематических единиц с использованием гипериммунных сывороток открывает широкие возможности в решении проблем иммунодиагностики и иммунопрофилактики гельминтозов.

Многочисленными исследованиями 70–80-х годов прошлого столетия было установлено, что антигенное родство между гельминтами сокращается с таксономической удаленностью [1, 2, 4, 5, 12, 14, 16].

Помимо этого, было показано, что число потенциальных антигенов в соматических экстрактах гельминтов значительно превышает количество функциональных, вызывающих синтез антител в инвазированном организме и имеющих диагностическое значение [5, 8, 10, 20–22].

При выборе гетерологичного вида паразита в качестве источника диагностического антигена возникает необходимость определения их антигенного родства, что, как правило, устанавливают иммунохимическими и серологическими методами с использованием антисывороток к антигенным компонентам каждого вида.

Такой подход в получении диагностических антигенов особенно привлекателен в тех случаях, когда существует проблема получения гомологичного антигенного материала.

Поскольку в наших диагностических исследованиях при диروفиларии возникла проблема в получении достаточного количества гомологичного антигена, мы использовали для этой цели половозрелые сетарии (*Setaria labiato-papillosa*), которые как и диروفиларии относятся к подотряду Filariata и могли иметь в антигенном составе компоненты, идентичные диагностическим при диروفиларии.

Исходя из этого, была поставлена цель – установить антигенное родство между *S. labiato-papillosa* и *Dirofilaria immitis* иммуноферментной реакцией (ИФР) с использованием гипериммунных сывороток к соматическим антигенам-экстрактам из этих видов гельминтов, оценив их активность в гомологичном и гетерологичном вариантах ИФР.

Материалы и методы

Объектами исследования служили половозрелые сетарии (*S. labiato-papillosa*), выделенные от инвазированного крупного рогатого скота на убойных пунктах Кабардино-Балкарской Республики и Украины, и половозрелые диروفиларии (*D. immitis*), полученные от зараженных собак в Краснодарском крае и Волгоградской области.

Соматические экстракты из каждого биоматериала готовили по методу Ruitenberg, Van Knapen [19] с модификациями применительно к нашим условиям. В полученных экстрактах определяли содержание белка на спектрофотометре при 280 нм по методу Layne [17] с калибровочной кривой на основании пятой фракции бычьего сывороточного альбумина. Гипериммунные сыворотки к антигенам приготовленных экстрактов получали иммунизацией четырех кроликов массой 2,0–2,5 кг, по два кролика на каждый экстракт. Схема иммунизации включала три трехдневных периода подкожного и внутримышечного введения соответствующего экстракта с интервалом между введениями три дня и последующей отдаленной реиммунизации, проведенной на 28–30-е сутки после окончания цикла иммунизации. Каждый кролик на весь цикл иммунизации в общей сложности получил по 10,5 мг соответствующего белка-экстракта. Кровь у иммунизированных кроликов брали на 7–9-е сутки после окончания цикла иммунизации и реиммунизации.

Активность полученных сывороток оценивали в ИФР методом титрования образцов сывороток кратно двум от разведения 1 : 100 до 12800 как с гомологичным, так и с гетерологичным экстрактами с последующим подтверждением данных реакцией иммунодиффузии (РИД) по методике Гусева и Цветкова [7] в 1,2%-ном агаровом геле (Difco) на 0,9%-ном растворе хлористого натрия.

Результаты и обсуждение

Исследование гипериммунных сывороток к антигенам экстрактов из половозрелых сетарий и диروفиларий в ИФР показало, что каждый иммунизированный кролик проявил индивидуальную реактивность, которая проявилась в реакции различным титром сывороточных антител и соответственно уровнем оптической плотности (ОП) в ИФР (табл. 1–4).

Так, судя по этим показателям, наиболее активно иммунный ответ проявился у кроликов к антигенам экстракта из диروفиларий. Но и в этом случае, судя по результатам ИФР в гомологичной системе реакции, иммунный ответ у одного кролика был выражен сильнее. С разведения 1 : 100 до 1 : 12800 показатели ОП иммунной сыворотки этого кролика были выше ми-

нимально на 0,098, а максимально на 0,292 (табл. 1). Такая тенденция, хотя и менее ярко выраженная, была отмечена и в показателях ОП в гомологичной системе ИФР с гипериммунными сыворотками обоих кроликов, иммунизированных антигеном-экстрактом из сетарий.

Отмеченные незначительные различия в этом случае свидетельствуют о том, что реактивность обоих кроликов по отношению к антигенам экстракта из половозрелых сетарий была равнозначной.

Что касается данных, полученных в гетерологичном варианте иммунореакции, можно с уверенностью констатировать, что все иммунные сыворотки к антигенам обоих видов паразитов проявили достаточную активность, хотя и в этом случае, судя по показателям ОП, наиболее активными были антисыворотки к антигенам половозрелых дирофилярий. Причем, также как и в гомологичном варианте ИФР, показатели ОП с иммунной сывороткой одного кролика были выше в среднем на 0,021–0,159 и эта разница увеличивалась при разведении. Наименьшую разницу в ОП (0,021) регистрировали в разведении 1 : 100, наибольшую (0,159) – в разведении 1 : 1600. При последующих разведениях эта тенденция сохранялась (табл. 2).

Аналогичный анализ гетерологичного варианта иммунореакции с антигеном из половозрелых *D. immitis* и антисыворотками двух кроликов к экстракту из *S. labiato-papillosa* показал незначительные колебания в показателях ОП в ИФР (табл. 4). Тем не менее, наибольшую разницу ОП (0,073) отмечали между исследуемыми антисыворотками в разведении 1 : 400, наименьшую (0,001) – в разведении 1 : 800. Различия в проявлении ИФР в гомологичном и гетерологичном вариантах безусловно являются следствием индивидуальной реактивности подвергнутых иммунизации кроликов, поскольку и доза введенного белка-антигена (10,5 мг) и условия их последующего содержания и кормления были одинаковыми.

Особенно наглядно различия иммунореактивности антисывороток к антигенам экстрактам из дирофилярий и сетарий можно проследить при сопоставлении показателей ОП в процентном отношении в гомологичной и гетерологичной постановках ИФР, взяв для примера наименьшее разведение 1 : 100 и наибольшее – 1 : 12800.

Так, если показатели ОП в гомологичной иммунореакции (антисыворотка к экстракту *D. immitis* и антиген *D. immitis*) условно принять за 100 %, то при гетерологичном варианте (антисыворотка к экстракту *D. immitis* и антиген из *S. labiato-papillosa*) при указанных выше разведениях с антисыворотками двух кроликов они составили соответственно 81,6 %; 87,7 и 66,7; 65,8 %.

Аналогичный анализ показателей ОП в ИФР с антисыворотками кроликов к антигенам экстракта из *S. labiato-papillosa* в гомологичном и гетерологичном вариантах реакции показал соответственно 68,9 %; 76,2 и 46,8; 49,7 %.

Эти данные, во-первых, подтверждают, что иммунная ответная реакция к антигенам-экстракта из *D. immitis* была выражена несколько сильнее, а, во-вторых, что в большинстве случаев более 50 % синтезируемых в процессе иммунизации антител к антигенам обоих паразитов вступают в реакцию антиген-антитело с гетерологичным антигеном.

Бесспорным и давно доказанным иммунохимическими методами является тот факт, что белковые экстракты из гельминтов не отличаются гомогенностью и содержат антигенные компоненты различной молекулярной массы, активности и специфичности.

Экспериментально также установлено, что в процессе заражения количество функционально значимых антигенов гельминтов, вызывающих синтез специфических антител, на выявлении которых основаны иммунотесты, значительно меньше, чем число потенциальных антигенов [5, 10, 20].

1. Оценка активности гипериммунных сывороток к антигенам экстракта из половозрелых *D. immitis* в ИФР
(гомологичная система; АГ – *D. immitis*)

Исследуемый материал	Оптическая плотность в ИФР при разведении исследуемых сывороток							
	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 12800
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из дирофилярий (а)	0,909	0,932	0,910	0,829	0,806	0,589	0,480	0,310
	0,935	0,920	0,982	0,954	0,974	0,904	0,819	0,694
	1,315	1,105	0,919	0,945	0,902	0,871	0,530	0,415
M±m	1,053±0,13	0,985±0,06	0,937±0,02	0,909±0,04	0,894±0,05	0,788±0,1	0,610±0,11	0,493±0,11
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из дирофилярий (б)	0,937	0,830	0,714	0,763	0,541	0,364	0,286	0,176
	0,900	0,863	0,887	0,812	0,794	0,610	0,406	0,333
	1,028	0,902	0,878	0,799	0,685	0,515	0,470	0,360
M±m	0,955±0,04	0,865±0,021	0,826±0,06	0,791±0,02	0,673±0,07	0,496±0,07	0,387±0,05	0,290±0,06
Контрольная сыворотка	0,125	0,118	0,108	0,100	0,098	0,086	0,072	0,060
	0,133	0,125	0,109	0,095	0,083	0,076	0,068	0,059
	0,121	0,124	0,119	0,099	0,083	0,077	0,059	0,048
M±m	0,126±0,004	0,122±0,002	0,112±0,04	0,098±0,002	0,088±0,01	0,076±0,003	0,066±0,004	0,056±0,004

Примечание. * – $P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,78$.

2. Оценка активности гипериммунных сывороток к антигенам экстракта
из половозрелых *D. immitis* в ИФР (гетерологичная система АГ – *S. labiato-papillosa*)

Исследуемый материал	Оптическая плотность в ИФР при разведении исследуемых сывороток							
	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 12800
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из дирофилярий (а)	0,730	0,698	0,611	0,536	0,465	0,337	0,244	0,253
	0,941	0,966	0,947	0,851	0,779	0,611	0,446	0,418
	0,905	0,830	0,790	0,705	0,648	0,585	0,490	0,315
M±m	0,859±0,07	0,831±0,08	0,783±0,1	0,697±0,1	0,631±0,1	0,511±0,09	0,393±0,08	0,329±0,05
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из дирофилярий (б)	0,808	0,729	0,634	0,507	0,359	0,254	0,182	0,147
	0,806	0,848	0,799	0,706	0,523	0,385	0,269	0,198
	0,900	0,820	0,789	0,690	0,535	0,480	0,305	0,229
M±m	0,838±0,03	0,799±0,04	0,740±0,05	0,634±0,06	0,472±0,06	0,373±0,07	0,252±0,04	0,191±0,02
Контрольная сыворотка	0,125	0,118	0,108	0,100	0,098	0,086	0,072	0,060
	0,133	0,125	0,109	0,095	0,083	0,076	0,068	0,059
	0,121	0,124	0,119	0,099	0,083	0,077	0,059	0,048
M±m	0,126±0,004	0,122±0,002	0,112±0,04	0,098±0,002	0,088±0,01	0,076±0,003	0,066±0,004	0,056±0,004

Примечание. * – $P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,78$.

**3. Оценка активности гипериммунных сывороток к антигенам экстракта
из половозрелых *S. labiato-papillosa* в ИФР (гомологичная система; АГ – *S. labiato-papillosa*)**

Исследуемый материал	Оптическая плотность в ИФР при разведении исследуемых сывороток							
	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 12800
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из сетарий (а ₁)	0,811	0,762	0,613	0,562	0,382	0,271	0,218	0,199
	0,989	0,900	0,858	0,697	0,527	0,322	0,217	0,147
	1,102	0,998	0,903	0,795	0,630	0,405	0,313	0,212
М±m	0,967±0,08	0,886±0,07	0,791±0,09	0,685±0,07	0,513±0,07	0,335±0,04	0,249±0,031	0,186±0,02
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из сетарий (б ₁)	0,835	0,809	0,703	0,626	0,471	0,369	0,295	0,147
	0,956	0,927	0,816	0,707	0,523	0,398	0,265	0,151
	0,870	0,802	0,759	0,690	0,580	0,405	0,315	0,221
М±m	0,887±0,04	0,846±0,041	0,759±0,03	0,674±0,03	0,525±0,031	0,391±0,011	0,292±0,014	0,173±0,02
Контрольная сыворотка	0,118	0,099	0,082	0,069	0,062	0,068	0,059	0,053
	0,104	0,082	0,072	0,063	0,059	0,057	0,047	0,032
	0,129	0,111	0,093	0,081	0,072	0,062	0,055	0,047
М±m	0,117±0,007	0,097±0,008	0,082±0,006	0,071±0,005	0,064±0,004	0,062±0,003	0,053±0,004	0,044±0,01

Примечание. *– $P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,78$.

**4. Оценка активности гипериммунных сывороток к антигенам экстракта
из половозрелых *S. labiato-papillosa* в ИФР (гетерологичная система; АГ – *D. immitis*)**

Исследуемый материал	Оптическая плотность в ИФР при разведении исследуемых сывороток							
	1 : 100	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 12800
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из сетарий (а 1)	0,686	0,561	0,377	0,327	0,260	0,191	0,095	0,080
	0,600	0,586	0,486	0,352	0,228	0,178	0,125	0,083
	0,712	0,603	0,512	0,405	0,320	0,232	0,138	0,099
M±m	0,666±0,03	0,583±0,012	0,458±0,04	0,361±0,023	0,269±0,03	0,200±0,02	0,119±0,013	0,087±0,01
Сыворотка кроличья гипериммунная к АГ из сетарий (б 1)	0,699	0,677	0,483	0,279	0,191	0,142	0,093	0,082
	0,629	0,546	0,508	0,326	0,226	0,170	0,123	0,079
	0,701	0,680	0,603	0,480	0,348	0,215	0,151	0,098
M±m	0,676±0,02	0,634±0,044	0,531±0,05	0,362±0,06	0,255±0,05	0,176±0,021	0,122±0,02	0,086±0,01
Контрольная сыворотка	0,118	0,099	0,082	0,069	0,062	0,068	0,059	0,053
	0,104	0,082	0,072	0,063	0,059	0,057	0,047	0,032
	0,129	0,111	0,093	0,081	0,072	0,062	0,055	0,047
M±m	0,117±0,007	0,097±0,008	0,082±0,006	0,071±0,005	0,064±0,004	0,062±0,003	0,053±0,004	0,044±0,01

Примечание. *– $P \leq 0,05$ при $t_{\text{критическом}} = 2,78$.

Слабая антигенность паразитарных белков для хозяина является следствием сближения их структуры в результате происходившей параллельной эволюции паразита и хозяина.

Одна из форм маскировки паразита под хозяина – характерная для гельминтов молекулярная мимикрия [11, 13, 15], которая выражается сорбцией белков хозяина поверхностными структурами паразита, что приводит к ослаблению иммуногенности их антигенов, которое, в свою очередь, влияет на уровень синтезируемых у хозяина антител и, следовательно, на эффективность иммунодиагностических тестов при гельминтозах.

В большинстве случаев у таксономически близких, а иногда и филогенетически удаленных биологических видов, многие белки имеют большое структурное сходство и, следовательно, антигенное родство, что является источником перекрестных реакций в иммунотестах. При этом приспособленность определенных видов паразитов к определенным видам хозяев – ни что иное, как приобретенное в процессе эволюции свойство организма паразита приспосабливаться к защитным реакциям хозяина [3, 6, 18].

Именно установление перекрестной реактивности у разных видов гельминтов служит обоснованием для использования в некоторых случаях гетерологичных видов в качестве источников антигенного материала.

Наши данные убедительно доказали, что в белковом спектре экстрактов из половозрелых дирофилярий и сетарий имеются сходные белковые компоненты, вызывающие синтез антител у кроликов, вступающих в реакцию антиген-антитело с антигенами обоих видов гельминтов. Тем не менее, необходимо было получить конкретный ответ на вопрос о том, есть ли среди компонентов белкового экстракта из сетарий диагностически значимые при дирофиляриозе и можно ли использовать сетарии в качестве источника такого антигена.

Ответ на этот вопрос был получен в результате иммунохимического анализа соматических экстрактов из сетарий и дирофилярий с сыворотками зараженных *D. immitis* собак РИД, при которой в обоих случаях проявилась одна диффузная полоса преципитации. Проявление диффузных полос связано, как правило, с наличием в сыворотке антител различной специфичности и гетерогенностью антигенов.

Учитывая, что доля видоспецифических компонентов в антигене спектре белковых экстрактов из гельминтов незначительная, для проведения диагностических исследований целесообразнее использовать хорошо очищенные и охарактеризованные антигены. Именно такой подход был впоследствии осуществлен нами, поскольку источником антигенного материала служил гетерологичный белковый экстракт из сетарий.

Таким образом, на основании анализа результатов проведенных нами исследований, подтвердивших присутствие в белковом экстракте из сетарий диагностически значимых антигенных компонентов при дирофиляриозе, мы считаем возможным использование половозрелых *S. labiato-papillosa* в качестве источника получения диагностического антигена при дирофиляриозе собак.

Литература

1. Andreeva G.N., Ermolin G.A., Tarakanov V.I. Perekrestno-reagiruushie antigeni v ekstraktah *Aphelenchus avenae*, *Neoaplectana glaseri* i *Dictyocaulus filaria* // Tr. Vses. in-ta gel'mintol. – 1975. – T. 22. – S. 3–7.
2. Andreeva G.N., Berezhko V.K. Sravnitel'nii immunohimicheskii analiz nekotorykh vidov nematod – parazitov rastenii, nasekomi i selskokoziastvennykh zhivotnykh // Tr. Vses. in-ta gel'mintol. – 1980. – T. 25. – S. 15–21.
3. Astafev B.A., Petrov O.E. Evoliucionno-geneticheskaia teoriia parazitizma // Uspehi sovremen. biol. – 1992. – T. 112, № 2. – S. 163–175.
4. Ballad N.E., Sokolovskaia O.M. Viiavlenie obshih i specifichnykh antigennykh komponentov u *Cysticercus bovis*, *Cysticercus cellulosae* i *Taeniarrhynchus saginatus* // Med. parazitol. i parazit. bol. – 1968. – № 2. – S. 193–198.

5. Berezhenko V.K. Immunologicheskaya reaktivnost, immunodiagnostika i immunoprofilaktika pri gelmintozakh zhivotnykh // Dissy ... d-ra biol. nauk. – M., 1994. – 474 s.
6. Vinnickii V.M. Mehanizm antigelmintnogo immuniteta v svete vzaimoobuslovennoi filogenii parasite i hoziaina // Doklady AN SSSR. – 1950. – T. 75, № 3. – S. 477–480.
7. Gusev A.I. Cvetkov V.S. K tehnikam postanovki reakcii mikroprecipitatsii v agare // Lab. delo. – 1961. – № 2. – S. 43–45.
8. Dargene R.K. Antigeny Trichinella spiralis, uchastvuyushie v immunogeneze pri eksperimentalnom trihinelloze pescov // Tr. Vses. in-ta gelmintol. – 1971. – T. 17. – S. 275–276.
9. Klimenko V.V., Sazanov A.M. Perekrestno-reagiruyushie antigeny u *Fasciola hepatica* i *Fasciola gigantica* i ih promezhutochnykh hoziayev // Tr. Vses. in-ta gelmintol. – 1975. – T. 22. – S. 85–91.
10. Klimenko V.V. Obektivnye faktory, ogranichivayushie diagnosticheskie effektivnost parazitarnykh antigenov, i puti ih preodoleniya // Tr. Vses. in-ta gelmintol. – 2004. – T. 40. – S. 116–124.
11. Petrov R.V. Immunologia. – M.: Medicina, 1983. – 363 s.
12. Sviridenko–Stepankovskaya L.P., Kononova M.N., Poletaeva O.G., Sokolovskaya O.N. Vliyeniye gruppopodobnykh antigenov b ehinokokkovoi zhidkosti i ekstraktov liofilizatsiy *Cysticercus cellulosae*, *C. bovis*, *Taeniarrhynchus saginatus*, *Ascaris suum* // Med. parazitol. i parazit. bol. – 1972. – № 2. – S. 131–135.
13. Bhattacharya Alok, Bhattacharya Sudha, Sehgal Devinder Molecular basis of immune response against parasites // Curr. Sci (India). – 1991. – V. 60, № 9–10. – P. 569–580.
14. Capron A., Brygoo E.R., Afchain D. Apport de l'etude de la structure antigenique a la phylogenie des Helminthes // Bull. Mus. Nat. hist. natur. Zoo. – 1972. – V. 55 – P. 877–885.
15. Damian R.T. Molecular mimicry: antigen sharing by parasite and host and its consequences // American Naturalist. – 1964. – V. 98, № 900. – P. 129–149.
16. Hiroshi Schinoda S. Study on Rhabditis elongate. I. Antigenicity // Jap. J. Parasitol. – 1969 – V. 18, № 1. – P. 87–92.
17. Layne E. Spectrophotometric and turbidometric methods for measuring proteins // Methods Enzymol. – 1957. – V. 3. – P. 447–454.
18. Renaud F. Biodiversite, genetique et evolution dans les systemes hotes-parasites // Bull. Soc. Zool. Ff. – 1992. – V. 117, № 1. – P. 109–115.
19. Ruitenberg E.J., Van Knapen F. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) as a diagnostic method for Trichinella spiralis infections in pigs // Vet. parasitol. – 1977. – V. 3, № 4. – P. 317–326.
20. Smith W.D. Serum and mucus antibodies in sheep immunised with larval antigens of *Haemonchus contortus* // Res. Vet. Sci. – 1977. – V. 22, № 1. – P. 128–129.
21. Smith W.D. Anti-larval antibodies in the serum and abomasal mucus of sheep hyperinfected with *Haemonchus contortus* // Res. Vet. Sci. – 1977. – V. 22, № 3. – P. 334–338.
22. Wendrychowicz H., Bezubik B. Studies on the antigens of *Ostertagia circumcincta*. I. Somatic antigens of infective larvae // Acta parasitol. pol. – 1983. – V. 28, № 24. – P. 233–244.

**Immunoenzymatic reaction as method of determination of antigen
affinity in different species of helminths**

V.K. Berezhko

doctor of biological sciences

L.A. Napisanova, K.A. Haidarov, A.A. Thakahova

candidates of biological sciences

All-Russian Research Institute of Helminthology named after K.I. Skryabin,

117218, Moscow, B. Cheremushkinskaya, 28,

e-mail: amina7161@yandex.ru

Immunoenzymatic reaction (IER) widely used for immunodiagnosis and sero-epizootic studies of helminthosis could be applied as a method for determination of antigen affinity between different kinds of helminths on the base of antigen-antibody reaction (heterologous and homologous) using hyperimmune sera for each type. Differences of reactivity in rabbits to antigens of somatic extracts from pubescent *Dirofilaria immitis* and *Setaria labiato-papillosa* are determined, that has been proved in IER by different titers of specific antibodies and level of optical density (OD). OD values in homologous antigen-antibody reaction (IER) in both cases: hyperimmune sera to antigen of extracts from *D. immitis* as well as from *S. labiato-papillosa* were higher than in heterologous system. By comparison of OD values in both IER variations it was determined that more than 50 % of synthesized antibodies in rabbits immunized with enzyme extracts from *D. immitis* and *S. labiato-papillosa* undergo the reaction antigen-antibody with a heterologous antigen. According to results of the coming immunochemical analysis of enzyme extracts from both types of parasites along with sera from dogs infected with *D. immitis* is determined that the antigen components important for diagnosis of dog's dirofilariasis are presented in extract from *S. labiato-papillosa*. From our point of view the using of pubescent *S. labiato-papillosa* as an antigen source by dirofilariasis in dogs is possible.

Keywords: immunoenzymatic test, *Dirofilaria immitis*, *Setaria labiato-papillosa*, hyperimmune serum, antigen affinity.