

УДК 619:616.98:579.873.21

ПОЛУЧЕНИЕ ОЧИЩЕННЫХ ВИДОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ДЛЯ ИММУНОЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Полоз А.И.

РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси»,
Республика Беларусь

Сложность ликвидации туберкулеза крупного рогатого скота в значительной степени связана с длительным сохранением возбудителя во внешней среде и его способностью персистировать в организме многих видов животных и человека, в том числе и в L-форме /3, 4/. Основной упор при проведении противотуберкулезных мероприятий делается на раннюю диагностику болезни и своевременное удаление из стада зараженных животных. Однако такая диагностика существенно затрудняется в случаях инфицирования животных атипичными микобактериями, широко распространенными во внешней среде. Отсутствие изменений при диагностическом убое животных отмечается и в случаях латентной туберкулезной инфекции.

Одним из методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота является иммунолюминесцентная микроскопия. Метод обнаружения антигенов с помощью люминесцирующих антител предложили Coons, Creech and all в 1941 г. Однако исследования многих авторов /1, 2, 6/ показали, что при использовании этого метода трудно добиться уверенной дифференциации возбудителя туберкулеза и атипичных микобактерий в связи с наличием сходных антигенных детерминант и невысокой устойчивостью L-форм микобактерий. Провести дифференциацию атипичных микобактерий и возбудителя туберкулеза можно, используя метод иммунолюминесцентной микроскопии (ИЛМ), который основан на специфической реакции между антигеном и иммуноглобулинами, к которым химически присоединен флуоресцентный краситель. Иммуноглобулины при этом не теряют специфичности. Этот метод позволяет идентифицировать возбудителя туберкулеза, как в чистой культуре, так и в смешанной, обнаруживать как корпускулярные, так и фиксированные антигены, а также идентифицировать возбудитель в патологическом материале. Кроме того, имеется возможность обнаруживать антигены, как живых, так и мертвых бактериальных клеток, а также L-формы микобактерий. По чувствительности этот метод уступает лишь методу радиоактивных изотопов, но превосходит его по скорости выполнения. Он позволяет наблюдать реакцию специфического связывания антигенов микроорганизмов с иммуноглобулинами на одной микробной клетке. Чувствительность его составляет $1 \times 10^3 - 5 \times 10^5$ микробных клеток в 1 мл, в то время как обычные иммунологические реакции требуют содержания в 1 мл взвеси $5 \times 10^4 - 2,5 \times 10^6$ микробных клеток /5/. Однако хорошие результаты при постановке ИЛМ можно получить используя очищенные иммуноглобулины к видоспецифическим антигенам возбудителей туберкулеза млекопитающих.

Для получения очищенных иммуноглобулинов, мы выращивали *M. bovis* Vallee на среде Сотона 6-8 недель, инактивировали добавлением фенола (3-5%). Взвесь бактериальной массы 15-20 мин обрабатывали ультразвуком (15-35 кгц, до 100 вт/см^2), дезинтеграт смешивали с масляным адьювантом и в дозе 300-500 мкг/кг вводили овцам в несколько точек подкожно. Инъекции повторяли 7-11 раз с интервалом 12-14 суток и общепринятым способом получали кровь и сыворотку. В полученную сыворотку крови (1:2) вносили смесь равных объемов ультразвуковых дезинтегратов атипичных микобактерий (*M. scrofulaceum* 526, *M. avium* 1603, *M. intracellulare* 5868, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889), приготовленных, как антиген *M. bovis* Vallee и инкубировали в оптимальных условиях для связывания иммуноглобулинов к общеродовым антигенам и образования иммунопреципитата. Иммунопреципитат удаляли центрифугированием (при $5000g$, 20 мин.), полученную истощенную антисыворотку проверяли в иммуноферментном анализе с использованием антигенов *M. bovis* Vallee, *M. tuberculosis* H₃₇Rv и смеси антигенов атипичных микобактерий. Результат считали положительным при превышении оптической плотности исследуемых антисывороток над контролем в 2 и более раза. Затем полученные сыворотки использовали в непрямом методе иммунолюминесцентной микроскопии.

Проведено 917 исследований (проб с объектов внешней среды, посевов с различных питательных сред, патологического материала, штаммов). Исследования проводились параллельно с использованием иммунолюминесцентной микроскопии, выращиванием материала на питательных средах и окрашиванием по Цилю-Нильсену (в качестве контроля). Результаты иммунолюминес-

центной микроскопии с использованием очищенных иммуноглобулинов совпадали с контрольными исследованиями в 95% случаев. Таким образом, использование очищенных иммуноглобулинов к видоспецифическим антигенам позволяет ускорить обнаружение возбудителя туберкулеза и его дифференциацию от атипичных микобактерий, повысить достоверность диагностирования.

Литература

1. Ермолова В.И. Советская медицина. - 1961. - № 5. - С. 148.
2. Клебанова А.А. // Проблемы туберкулеза. - 1960. - № 7. - С. 77-84.
3. Коваленко И.В. Л-формы микобактерий туберкулеза: Клиническое значение и выявление. - Мн.: Наука и техника, 1989. - 104 с.
4. Колычев А.М., Кассич Ю.Я. Туберкулез сельскохозяйственных животных/Под ред. В.П. Шишкова, В.П. Урбана - М.: Агропромиздат, 1991. - 255 с.
5. Обнаружение типичных и измененных микобактерий туберкулеза непрямым методом иммунофлюоресценции: Метод. рекомендации/РАСХН. Дальневост. отд-ние. ДальЗНИВИ. - Новосибирск, 1992. - 12 с.
6. Цацкина Э.С., Михайлова Л.В. Туберкулез. - Фрунзе, 1971. - С. 120 - 121.

УДК 619:616.995.1:612.332

МИКРОФЛОРА И ГЕЛЬМИНТОЗЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖИВОТНЫХ

Поташова Л.Г., Батуро А.П., Романенко Э.Е., Гламаздин И.Г.
НИИВС им. Мечникова РАМН

Московский государственный университет прикладной биотехнологии, Российская Федерация.

Нормальная кишечная микрофлора животного организма представляет собой множество микробиоценозов. Огромное количество и видовое разнообразие микробных клеток обеспечивает их участие во многих физиологических функциях макроорганизма.

Широко используется разделение представителей нормальной флоры на резидентную - постоянно встречающуюся и транзиторную (случайную).

Одной из важных функций нормальной микрофлоры является ее участие в обеспечении колонизационной резистентности. К резидентной микрофлоре относятся, главным образом, бифидобактерии, лактобактерии, бактероиды, энтерококки, эшерихии, дрожжеподобные грибы, которые обеспечивают развитие механизмов, предотвращающих заселение организма посторонними бактериями.

Равновесие между отдельными популяциями является динамическим, оно периодически нарушается и самостоятельно восстанавливается, если макроорганизм обладает достаточно выраженным иммунитетом.

Нарушение баланса микрофлоры внутри биоценоза приводит к возникновению и развитию патологий в ряде систем всего организма. Качественный и количественный состав микрофлоры изменяется при функциональных нарушениях желудочно-кишечного тракта, состояниях после хирургического вмешательства на желудочно-кишечном тракте, иммунодефицитах, бездумном, а также часто бесконтрольном применении антибиотиков, сменах рационов, транспортировках, вакцинациях, гельминтозах и применении антигельминтных препаратов.

Гельминтозы протекают как сложный процесс взаимодействия между паразитом и организмом хозяина и часто создают оптимальные условия для развития вирусов, бактерий и грибов. Ряд авторов (Ю.Ф. Петров, 1994) описывают синергические взаимодействия гельминтов и бактерий у сельскохозяйственных животных. Личинки и молодые гельминты в процессе миграции на поверхности и внутри тела хозяина инокулируют в органы и ткани хозяина большое число бактерий. Так, молодые фасциолы и дикроцелии, проникая в паренхиму печени, вызывают разрушение тканей, что создает благоприятные условия для развития бактерий.

Одновременно в кишечнике больных животных развивается дисбактериоз. Увеличивается число эшерихий, стафилококков, стрептококков, клостридий, протей. При этом число лактобактерий резко снижается. С изменением количества меняется и качественный состав бактерий. Особенно остро это выражено при суперинвазии в летний период. Дисбактериоз кишечника также отмечается при цестодозах и умеренно - при нематодозах.