

УДК 619:616 - 006.446 - 619:616 - 07

В.М. ЖАВНЬКО, кандидат ветеринарных наук, доцент

РНГА С АНТИИДИОТИПИЧЕСКИМИ АНТИТЕЛАМИ В ДИАГНОСТИКЕ
ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В процессе диагностической работы возникают значительные трудности в получении очищенных антигенов вируса в достаточных количествах. Решить эту задачу можно путем использования антиидиотипических антител (АИТ). Являясь своеобразным отражением антигенных детерминант вируса, они могут использоваться вместо антигенов при создании диагностических препаратов. Полученные однажды специфические антитела к очищенному антигену могут продолжительное время служить источником АИТ. Их получение проще и технологичнее, чем накопление значительных количеств вируса или вирусных белков.

Для получения АИТ использовали специфическую сыворотку к вирусу лейкоза крупного рогатого скота из "Набора для серологической диагностики лейкоза" производства Курской биофабрики. Из нее выделяли моноспецифические антитела по методу, описанному ранее. Их концентрировали с помощью ПЭГ-40 000 и использовали для изготовления АИТ. Последние получали на белых мышах путем внутрибрюшинной иммунизации трехкратно с трехнедельным интервалом. На каждую инъекцию брали 20 мкг белка на мышь в объеме 0,2 мл в смеси с полным адъювантом Фрейнда. Из полученной сыворотки выделяли γG по ранее описанному методу, абсорбировали нормальным γG и использовали как источник АИТ.

В дальнейшем АИТ применили в качестве сенситина для изготовления эритроцитарного диагностикума. С этой целью использовали эритроциты крупного рогатого скота, которые получали от здоровых животных по общепринятой методике. Затем эритроциты стабилизировали, подвергали танизации и сенситизации.

Эритроциты (10%-ная взвесь на физрастворе) стабилизировали равным объемом 0,2%-ного раствора акролеина в водяной бане при 37°C в течение 30 мин. Затем их трижды отмывали физраствором и подвергали танизации. С этой целью к 5%-ной взвеси акролеинизированных эритроцитов добавляли равный объем раствора танина в разведении 1: 20 000 и выдерживали в водяной бане при 37°C 30 мин, отмывали физраствором и ресуспендировали до 50%-ной концентрации.

Сенситизацию осуществляли следующим образом. К 0,2 мл 50%-ной суспензии акролеинизированных таннизированных эритроцитов на физрастворе добавляли 0,2 мл раствора АИТ (концентрация по белку 2 мг/мл) и 0,6 мл физраствора. В данную смесь вливали 1 мл 0,1%-ного раствора хлористого хрома и оставляли при комнатной температуре не более чем на 5 мин. Реакцию останавливали прибавлением 50 объемов 0,02 М фосфоро-буферного раствора pH-7,2. Трехжды отмывали этим же буфером и хранили в рабочей концентрации (2--3%-ная взвесь в консерванте, состоящем из физраствора с 0,3% фенола и 1% нормальной кроличьей сыворотки).

Перед постановкой реакции исследуемые сыворотки разводили 1:2 консервантом и инактивировали в водяной бане при 56⁰С в течение 30 мин. Истощение сывороток не проводили, так как эритроциты крупного рогатого скота с нормальными сыворотками многих видов животных не реагируют.

Реакцию ставили в панелях микротитратора Такачи. Исследуемые сыворотки разводили консервантом от 1:2 до 1:256. К каждому разведению исследуемой сыворотки добавляли по капле эритроцитарного диагностикума. Учет реакции проводили через 2-3 ч, но не ранее полного осаждения эритроцитов в контроле.

Исследовали по 30 проб сывороток от животных сероположительных и серонегативных В РИД. Результаты проведенных исследований показали, что все сероположительные сыворотки дали полную совпадемость результатов с РИД. При этом титры антител составляли от 1:32 до 1:256. В группе серонегативных животных результаты РИГА оказались положительными в 30% случаев при титрах от 1:8 до 1:128.

Таким образом, АИТ могут успешно применяться в качестве одного из компонентов в серологических реакциях (РИГА). При этом сохраняется их высокая чувствительность и специфичность.

Литература

1. Жавненко В.М., Могиленко А.Ф. Получение специфических сывороток к иммуноглобулинам различных классов // Ветеринария. - 1984. - № 10. -

2. Жавненко В.М. Получение моноспецифических антител к антигенам ВКРС // Ветеринария. - 1988. - № 1.