

ПРИМЕНЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНО- СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИТЕЛ К РОЖИСТЫМ МИКРОБАМ В КРОВИ ИММУННЫХ СВИНЕЙ

БИРКАН Н. Д.

В проведенных нами опытах испытана возможность применения люминесцентно-серологического метода выявления противорожистых антител в сыворотке крови свиней.

В работах Р. Б. Гольдина и Ф. И. Красника (1961), Н. М. Балаева, М. Я. Корн и А. Я. Кульберг (1962), Е. Н. Левиной и Г. Ф. Долгова (1962), И. Ф. Михайлова (1968), В. М. Жавненко (1970) и других отмечается, что метод люминесцирующих антител, испытанный с целью выявления антигенов или антител в биологических субстратах, высокоспецифичен и по чувствительности превосходит обычные серологические методы, довольно прост в исполнении.

Мы поставили специальные опыты по выявлению антител к возбудителю рожи в крови неиммунных и вакцинированных свиней. Применяли непрямой метод использования флюоресцирующей сыворотки, разработанный Уилером и Кунсом в 1954 г. Метод заключается в том, что на антигенный препарат вначале наносится испытуемая нефлюоресцирующая сыворотка. Адсорбированные на антигене антитела выявляются флюоресцирующей антивидовой сывороткой против гамма-глобулинов свиней.

Методика опыта заключалась в следующем. Из взвеси культуры возбудителя рожи (1 млрд. клеток в 1 мл) готовили мазки, высушивали и фиксировали метанолом. На стекла с антигеном наносили испытуемую сыворотку крови свиней в различных разведениях (от 1 : 5 до 1 : 2560) и выдерживали во влажной камере в термостате (при 37°) 20 минут. Затем промывали мазки проточной водопроводной водой 10 минут, высушивали и покрывали люминесцирующей сывороткой против гамма-глобулина свиней. Препараты снова помещали во влажную камеру и выдерживали в термостате 20 минут, промывали водопроводной водой и высушивали. Обработанные таким образом мазки просматривали в люминесцентном микроскопе МЛ-2 (объектив 90, окуляр 4, светофильтры СЗС-7, ФС-1, БС-8, ЖС-18,2).

Контрольные исследования проводили с обработкой пре-

Динамика антител к рожистому антигену, выявляемых люминесцентно-

Вакцинация	Время исследования	Разведение сыворотки	
		1:5	1:10
Одновременная против чумы, рожи и болезни Ауески	До опыта	++++	+++
	3 дня после 1-ой вакцинации	++++	++++
	8 » » » »	++++	++++
	3 » » 2-ой »	++++	++++
Депонированной вакциной против рожи свиней	До опыта	++++	+++
	3 дня после 1-ой вакцинации	++++	++++
	8 » » » »	++++	++++
	3 » » 2-ой »	++++	++++
	8 » » » »	++++	++++

паратов физиологическим раствором хлорида натрия и люминесцирующей сывороткой.

Микробные клетки в мазках характеризовались специфической флуоресценцией с выраженным свечением по их периферии. В контрольных мазках люминесценции рожистых бактерий не отмечено. Интенсивность свечения рожистых бактерий оценивалась в крестах:

- ++++ — яркая, сверкающая зеленая люминесценция рожистых бактерий с интенсивным свечением по их периферии;
- +++ — отчетливо выраженная зеленоватая люминесценция антигена с интенсивным свечением по периферии клеток;
- ++ — неяркая желтоватая люминесценция без выраженного свечения периферии бактерий;
- + — очень слабая люминесценция с еле различимой морфологией бактерий;
- — люминесценция отсутствует.

Положительным результатом считали интенсивность свечения клеток антигена в четыре и три креста.

Опыт был поставлен на 10 поросятах-отъемышах 2—2,5-месячного возраста. Исследовали сыворотку крови до иммунизации, через 3 и 8 дней после первой и через тот же промежуток времени — после второй вакцинации. При этом

серологическим методом (обозначения в тексте)

1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:800	1:1200	1:1600	1:2560
++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
++++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
++++	++++	++	—	—	—	—	—	—	—
+++++	++++	++++	++	++	—	—	—	—	—
+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	++	++	—
++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
++++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
++++	++++	++	—	—	—	—	—	—	—
++++	++++	++++	++	++	—	—	—	—	—
++++	+++++	+++++	++++	++++	++	++	—	—	—

5 поросят иммунизировали одновременно против чумы, рожи и болезни Ауески, а 5 других животных — только против рожи депонированной вакциной. Одновременную вакцинацию проводили смесями препаратов с использованием сухой вирусвакцины АСВ из штамма К против чумы, сухой вирусвакцины ГНКИ против болезни Ауески и депонированной вакцины против рожи свиней. Иммунизировали двукратно: первый раз — смесью вакцин против чумы и рожи, второй — через 14 дней смесью вакцин против чумы, рожи и болезни Ауески. Подопытные животные были в подсосном возрасте иммунизированы дважды против болезни Ауески вирусвакциной ГНКИ.

Результаты выявления противорожистых антител представлены в таблице.

У неиммунизированных поросят-отъемышей отмечено наличие люминесценции рожистого антигена, обработанного сывороткой в разведении 1 : 10, что указывает на очень слабый остаточный коллоидальный противорожистый иммунитет.

При исследовании крови поросят, привитых первично смесью вакцин против чумы и рожи, а также только против рожи, отмечено наличие антител через 3 дня в разведении сыворотки 1 : 20, через 8 дней — 1 : 40.

У поросят, привитых повторно смесью трех вакцин, антитела обнаружены в разведениях сыворотки: через 3 дня —

1 : 80, через 8 дней — 1 : 800. В крови поросят, иммунизированных повторно только против рожи, такие антитела выявлены через 3 дня в разведении сыворотки 1 : 80, через 8 дней — 1 : 320.

Этот тест наглядно подтверждает, что после первого введения депонированной вакцины в отдельности или в смеси с другими антигенами еще не происходит активной продукции противорожистых антител. Настоящие данные согласуются с сообщениями многих исследователей, указывающих на слабый генез противорожистых антител у поросят, привитых однократно депонированной вакциной.

После повторной иммунизации одной депонированной вакциной или в ассоциации с другими антигенами наблюдается активная продукция антител против рожи, что указывает на создание прочного иммунитета к этому заболеванию.

Необходимо отметить, что титр антител через 8 дней после второй иммунизации у вакцинированных ассоциированным методом был выше, чем у поросят, привитых только одной депонированной вакциной.

Была исследована сыворотка свиней на наличие противорожистых антител спустя 4 месяца после одновременной иммунизации их против чумы, рожи и болезни Ауески. При этом в сыворотке крови установлены противорожистые антитела в титре 1 : 320. Проверкой напряженности иммунитета отмечена высокая устойчивость свиней к искусственному заражению возбудителем рожи.

Таким образом, непрямой метод флуоресцирующих антител является простым, доступным тестом, позволяющим быстро определить наличие антител у свиней после иммунизации их против рожи.

ВЗАИМОСВЯЗЬ КАРБОАНГИДРАЗЫ С ЦИНКОМ В ИММУНОГЕНЕЗЕ И ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНИ АУЕСКИ И ПАРАТИФА СВИНЕЙ

ШПАК Г. Е., АНТЮКОВ М. А.

Биологическая роль цинка связана с его участием в функциях ряда ферментов. Среди них важное место занимает цинкопротеид карбоангидраза, в состав которой вхо-