

допустимой нормой. Животные охотно принимали корм и воду.

Лечебный эффект у животных первой группы начал проявляться на 30 день после второго введения вакцины и выражался в уточнении и отторжении трихофитийных корочек. У животных второй группы, обработанных дополнительно препаратом «Сальмопул», лечебный эффект начинал прояв-

ляться на 20 день после второго введения вакцины.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что применение препарата «Сальмопул» способствует активизации неспецифических факторов гуморального иммунитета и повышает терапевтическую эффективность вакцины ТФ-130 (К).

УДК 619:576.8.078:616-025

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ВКГ И НАБОРА АНТИСЫВОРОТОК ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА

Лемиш А.П.,

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

Припыченко А.Н.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Туберкулёз остаётся одной из значимых проблем инфекционной патологии животных и человека во всём мире, особенно у крупного рогатого скота. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), третья часть населения земного шара инфицирована возбудителем туберкулёза. В ближайшее время туберкулёз может приобрести характер тотальной пандемии. В ближайшее время в мире прогнозируется не менее 90 млн. новых случаев болезни /6/, а к 2020 году 70 млн. больных туберкулёзом уйдут из жизни /2/.

Основной методом борьбы с туберкулёзом животных остаётся аллергическая проба с туберкулином. Однако, ситуация по туберкулёзу остаётся сложной, в том числе и в Беларуси. Только в прошлом году в Республике Беларусь было выявлено 5379 человек, впервые заболевших туберкулёзом. Несмотря на явную тенденцию улучшения ситуации по туберкулёзу крупного рогатого скота в нашей стране, ежегодно выявляется до 25 тыс. коров с реакциями на туберкулин и появляются пункты, неблагополучные по туберкулёзу. Кроме того, ежегодно регистрируют около 200 случаев туберкулёза при диагностическом убое крупного рогатого скота /5/.

В 2002 г. в Республике Беларусь апробирована питательная среда ВКГ для ускоренного выделения возбудителя туберкулёза /3,4/.

Установлено, что питательная среда ВКГ позволяет выявить существование неизвестных стадий развития возбудителя туберкулёза, резко отличающихся по морфологии и биологическим свойствам от классического варианта, а набор антисывороток в пластинчатой реакции агглютинации позволяет установить принадлежность выросших культур к возбудителю туберкулёза. Сроки постановки диагноза сокращаются в 5-10 раз /1/.

Кроме того, нами была апробирована среда ВКГ и получен диагностический набор сывороток, для идентификации выросших на среде культур.

Постановка диагноза на туберкулёз в настоящий момент является в бактериологии одним из самых трудоёмких и сложных процессов, требую-

щий много времени и затрат. Использование различных методов диагностики туберкулёза не раскрывает всю сложность биологии развития возбудителя.

Целью наших исследований являлось доказательство принадлежности выявляемых при помощи питательной среды ВКГ бактерий к возбудителю туберкулёза и сокращение сроков постановки диагноза на туберкулёз.

Материалы и методы исследований. Новый способ выделения возбудителя туберкулёза основывается на предварительной обработке патологического материала стимулятором роста в течение 24-48 часов и дальнейшим посевом его на питательную среду и культивированием при 37°C. В последующем оцениваются характер роста колоний, а также морфологические и тинкториальные свойства бактерий при окраске по Цилю-Нильсену.

Для реверсии в бактериальную форму протопластов и L-форм, выделяемых из исследуемого материала на среде ВКГ (лимфатические узлы животных с туберкулёзоподобными изменениями, стабилизированная кровь животных и человека, являющихся бактериовыделителями) использовали питательную среду Гельберга без малахитового зелёного. Культуры, снятые с ВКГ суспендировали в физиологическом растворе и высевали на среду Гельберга без малахитового зелёного и культивировали при температуре 37°C в течение 25-30 суток. Проводили повторное культивирование выросших культур при тех же условиях на питательной среде Гельберга с малахитовым зелёным.

Полученные культуры проверяли в пластинчатой реакции агглютинации с сыворотками к трансформированным (L-формам) микобактерий и эталонным штаммам (*M. bovis* №8 и *M. tuberculosis* H₃₇Rv).

Специфические сыворотки получили путём многократной иммунизации баранов трансформированными формами микобактерий со среды ВКГ и бактериальными формами, разрушенных ультразвуком.

Реакцию учитывали через 5-7 мин, просматривая стёкла на темном фоне и под осветителем

ОИ-19 с помощью лупы начиная с контроля. Если с нормальной сывороткой не отмечалась агглютинация, проводили учёт всей реакции. Положительной считали реакцию с образованием крупно- или мелкозернистого агглютината с просветлением жидкости не менее, чем на "++". Отрицательной считали реакцию, если суспензия оставалась гомогенной. Интенсивность агглютинации оценивали в плюсах: "++++" - образование крупно- или мелкозернистого агглютината с полным просветлением жидкости; "+++ " - образование заметного крупно- или мелкозернистого агглютината с почти полным просветлением жидкости; "++" - образование заметного крупно- или мелкозернистого агглютината, но просветление жидкости выражено слабо; "+" - образование едва заметного крупно- или мелкозернистого агглютината, жидкость мутная; "-" - нет образования агглютината, жидкость равномерно мутная;

Результаты исследований и их обсуждение. Нами получены следующие результаты:

1) из лимфатических узлов убитых животных и из крови животных и человека при помощи питательной среды ВКГ и созданного нами диагностического набора антисывороток были выделены протопласты и L-формы микобактерий, которые были идентифицированы как *M. tuberculosis*.

2) В результате культивирования полученных культур на среде Гельберга с малахитовым зелёным в течение 30-40 дней был получен характерный рост колоний для *M. tuberculosis* и *M. bovis*. При окраске препаратов-мазков по Цилю-Нильсену были выявлены рубиново-красные утолщённые по центру палочки, что является свидетельством способности трансформированных форм реверсировать в кислото-спирто-устойчивую форму.

При обработке исследуемого материала на питательной среде ВКГ выделяются протопласты (от лат. *protos* – первый, *plato* – лепить) и L-формы микобактерий. Многие исследователи считают протопласты одной из стадий L-трансформации бактерий //1.

Вывод. Проведенные исследования показали, что питательная среда ВКГ и диагностический набор сывороток, являются универсальным способом, при помощи которого можно в течение 3 - 7 дней выделить трансформированные (без клеточной стенки) и L-формы микобактерии и достоверно установить их принадлежность к микобактериям вида *M. bovis* или *M. tuberculosis*.

Литература. 1. Власенко В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности. Винница, «Гипанис», 1999 – 224 с; 2. Гарданов М.С. Туберкулёз: второе пришествие: История болезни, её профилактика и лечение. – Мн.: Парадокс, 2000. – 160с; 3. Джавец Э., Мельник Дж. Л., Эйфельберг Э.А. Руководство по медицинской микробиологии. – Москва, 1982, т. 1. – 368 с; 4. Лысенко А.П. и др. Стимулятор роста и среда ВКГ для ускоренного выделения микобактерий, культуральные, патогенные и антигенные свойства изолируемых культур// Ветеринарная медицина Беларуси. - Мн.- № 1.-2003.- С.- 10-13; 5. Лысенко А.П., Высоцкий А.Э., Агеева Т.Н. Разработка и внедрение новых методов диагностики и профилактики туберкулеза в Республике Беларусь; Ветеринарная патология, современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных. Мн., 1-2 (9), 2004 г., с. 41-43; 6. Мельник В.М., Турченко Л.В., Фещенко Ю.И. Клиническая оценка эффективности выявления микобактерий туберкулеза на среде ВКГ; Ветеринарная патология, современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза животных. Мн., 1-2 (9), 2004 г., с.110-113; 7. Яковенко К.Н., Тронцкий Н.А. Протопласты микроорганизмов. – Мн.: Наука и техника, 1985. – 160 с.

УДК 619:616.98:578.828.11Л:636.22/28

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ПРИ ЛЕЙКОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Лынченко И.Ю.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь

Fab₂флуоресцирующий диагностикум предназначен для индикации лимфоцитов периферической крови инфицированных вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС).

Препарат представляет собой взвесь Fab₂-фрагментов иммуноглобулинов класса G к ВЛКРС, обработанных флуоресцеинаизотиоцианатом (ФИТЦ).

Для изготовления Fab₂флуоресцирующего диагностикума использовали следующие компоненты: Fab₂-фрагменты IgG к ВЛКРС; ФИТЦ; 0.1 М Na₂CO₃; 0,05 М раствор карбоната натрия; 0.01 М фосфатно-солевой буфер, pH 7,5; дистиллированная вода; физраствор.

Для получения Fab₂-фрагментов IgG к ВЛКРС брали следующие компоненты: IgG к

ВЛКРС; 0,1 М ацетатный буфер pH 4,3; кристаллический пепсин; 1 М раствор уксусной кислоты; 1 М раствор NaOH; стафилококковый реагент производства НИИ им Л.Пастера(г.Санкт-Петербург); 0,1 М фосфатный буфер pH 8,0; азид натрия.

IgG к ВЛКРС диализовали против 0,1 М ацетатного буфера, pH 4,3; затем к нему добавляли кристаллический пепсин в соотношении глобулин:пепсин 50:1; при необходимости, доводили pH до 4,3 1М раствором уксусной кислоты; смесь оставляли на водяной бане при t +37°C на 8-14 часов; затем охлаждали во льду. Осадок, который образовывался во время реакции, удаляли центрифугированием и доводили pH до 8,0 с помощью 1М раствора NaOH (для инактивирования пепсина); к осадку стафилококка после последнего центрифуги-