

ПОЛУЧЕНИЕ ГИПЕРИММУННОЙ СЫВОРОТКИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЛИСТЕРИОЗА В РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ

*Туктаров А., Чобанюк В., студенты 2 курса, факультета ветеринарной медицины, специальность ВСЭ.
Научный руководитель: Хлынов Д.Н., ассистент кафедры МВЭ и ВСЭ.
ФГБОУ ВПО Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина*

Листерииоз является актуальной проблемой в системе эпидемиологического и эпизоотологического надзора за инфекционными болезнями в Российской Федерации. Хотя в настоящее время листериоз не доминирует в структуре инфекционных болезней животных, тем не менее, его природная очаговость и широкое распространение в окружающей среде требуют к себе пристального внимания специалистов ветеринарной сети.

Своевременно установленный диагноз является залогом успешной борьбы с инфекционными заболеваниями животных, в том числе и с листериозом. Серологические реакции активно применяют при проведении полного объема диагностических исследований, как на этапах идентификации выделенного из патологического материала патогена, так и при проведении прижизненной диагностики инфекционных заболеваний (ретроспективная диагностика).

Для диагностики листериоза серологическими методами лабораторной ветеринарной практике предложены реакция связывания комплемента, позволяющая выявлять как больных животных, так и листерионосителей, и реакция агглютинации. Производство этих диагностических препаратов сопряжено с большими трудовыми и материальными затратами. Промышленное получение высокоактивных специфических противолистерийных сывороток очень трудоемкий процесс, к тому же применяемые в настоящее время в производстве сывороток листериозные штаммы не позволяют получать сырье с высоким титром противолистерийных антител. В связи с этим становится очевидным актуальность проведения работ по поиску новых высокоактивных штаммов-продуцентов противолистерийных антител, различающихся по спектру антигенного действия.

Цели и задачи исследования. Целью наших исследований явилось получение специфических листериозных сывороток для диагно-

стики *L. monocytogenes* в реакции агглютинации.

Получение специфических листериозных сывороток.

В качестве доноров при производстве листериозных сывороток использовали клинически здоровых кроликов и овец. Предварительно, перед иммунизацией, у животных отбирали «нулевые» сыворотки и тестировали их в РСК, РА и РДП на наличие антилистериозных антител. Для иммунизации использовали животных в сыворотках крови которых не выявляли специфических антител.

Иммунизацию проводили параллельно в двух группах кроликов по двум различным схемам.

1-я схема. Кроликов иммунизировали подкожно и внутримышечно шестикратно через каждые три дня листериозным антигеном. Доза антигена в каждой инъекции составляла 1 см³. Концентрация белка в антигене определяли по методу Бредфорда. Концентрация составила 7 мкг/мл. Каждую дозу антигена ресуспендировали с 1 см³ полного адьюванта Фрейнда (Difco, США). Общий объем вводимого антигена составил 6 см³. Отбор крови на сыворотку производили на 7-ые сутки после последней иммунизации. Сыворотку отделяли от кровяного сгустка и консервировали мертиолятом в разведении 1:10000.

2-я схема. Кроликов иммунизировали внутримышечно и подкожно семикратно через каждые три дня в нарастающих, а затем в убывающих дозах антигена. Использовали следующие дозы антигена: 1 см³; 2 см³; 3 см³; 4 см³; 3 см³; 2 см³; 1 см³. Общий объем вводимого антигена составил 16 см³. Отбор крови на сыворотку производили на 7-ые сутки после последней иммунизации. Сыворотку отделяли от кровяного сгустка и консервировали мертиолятом в разведении 1:10000.

Тестирование иммунных сывороток серологическими методами.

В сыворотках крови животных-доноров наличие специфических противолистериозных антител определяли реакциями агглютинации.

Постановку реакции агглютинации проводили как с гомологичными, так и с гетерологичными антигенами. Предварительно готовили серийные двукратные разведения сывороток на физиологическом растворе, начиная от 1:10 и заканчивая 1:320. В качестве антигенов использовали бактериальные клетки штаммов/изолятов, выращенных при 23°C.

Для изучения перекрестной активности сывороток (Таблица 1) каждую сыворотку тестировали против того антигена, на который она была получена и против антигенов других видов бактерий. В качестве контрольных сывороток использовали коммерческие сыворотки кроликов, полученных против (О)Н-антигенов листерий, производства фирмы Difco (США).

Таблица 1

Результаты реакции агглютинации О-, ОН- сывороток с О-антигенами листерий

Антиген	Сыворотки полученные по 1й схеме	Сыворотки полученные по 2й схеме
Listeria monocytogenes	1:40	1:80
Листериозный ОН-антиген фирмы Difco	1:40	1:80
Eriseopelotrix ruziopatie	-	-
Esherichia coli	-	-

Наиболее активными оказались сыворотки крови кроликов полученные по схеме с нарастающей дозой антигена.

Отрицательные результаты реакции агглютинации с другими типами антигена дают основание считать, что нами были получены практически чистые препараты листериозных гипериммунных сывороток. Высокие титры антител дают обоснование для дальнейшего использования агглютинирующих сывороток для диагностики листериоза.