

УДК 619: 616.9

¹Н.П. Иванов, ²В.Б. Тен, ¹А.Т. Арысбекова*, ^{1,2}Е.К. Оспанов, ¹С.Н. Саримбекова
¹Казахский Национальный аграрный университет,
²ТОО «Казахский научно – исследовательский ветеринарный институт»
 *e-mail: serikbaeva@yandex.ru

Изучение сравнительной активности и специфичности аллергенов, приготовленных из бруцелл разными методами

Приведены данные по изучению сравнительной активности и специфичности аллергенов, приготовленных разными методами из различных видов бруцелл. Было выявлено, что наиболее выраженными сенсibilизирующими свойствами обладают *Brucella melitensis Rev-1*. Наибольшая аллергенная активность обнаруживается в супернатанте после осаждения крупнодисперстных соединений из взвеси лизированных ультразвуком *Brucella melitensis Rev-1* в сравнении с аналогичным препаратом из *Brucella abortus 19*.

Ключевые слова: бруцеллез, бруцеллы, реакция агглютинации, реакция связывания комплемента, аллергопробы, аллерген.

Н.П. Иванов, В.Б. Тен, А.Т. Арысбекова, Е.К. Оспанов, С.Н. Саримбекова

Әр түрлі әдістермен, бруцеллалардың бірнеше түрлерімен дайындалған аллергендердің белсенділігі мен өзіндік ерекшелігін салыстырмалы түрде зерттеу

Мақалада әр түрлі әдістермен, бруцеллалардың бірнеше түрлерімен дайындалған аллергендердің белсенділігі және өзіне тәнділігін анықтаудың нәтижелері салыстырмалы түрлері келтірілген. Теңіз шошқаларына *Brucella melitensis Rev-1* және *Brucella abortus 19* штаммымен салыстырғанда *Brucella melitensis Rev-1* штаммы сенсibilиздеуші құрылымына қарай анағұрлым анық байқалды.

Теңіз шошқаларына тәжірибе жасап қарағанда, ультрадыбысты толқынмен алынған аллерген, 1:15 қатынаста тері астына еккенде белсенділігі жоғары екендігі байқалды. Осыған орай бруцеллез ауруын балауға арналған аллергенді 10 рет сұйылтып қолдануға болады.

Түйін сөздер: бруцеллез, бруцеллалар, агглютинация реакциясы, комплемент байланыстыратын реакция, аллергия реакциясы, аллерген.

N.P. Ivanov, V.B. Ten, A.T. Arysbekova, E.K. Ospanov, S.N. Sarimbekova

Comparative study of specificity and activity of allergens prepared from brucella by different methody

In article was shown of data on studying of comparative activity and specificity of the allergens prepared by different methods from different types of brucellas. It was shown that the most expressed sensibilizing properties for sea pigs *Brucella melitensis Rev-1*, in comparison with *Brucella abortus 19* possess.

It is revealed that the greatest allergenic activity is found in under sediment part after sedimentation the big dispersed of connections with the help of an izoionofocusing.

In experiences on sea pigs it is shown that the allergen received by disintegration of brucellas by energy of ultrasonic waves, shows the expressed activity at intracutaneous introduction it in cultivation till 1:15. Thus, the received preparation can be applied to allergic diagnostics of a brucellosis in 10 multiple cultivation.

Keywords: brucellosis, brucella, reaction of agglutination, reaction of bining of compliments, allergy samples, allergens.

Развитие животноводства в современных условиях (наличие мелких крестьянских фермерских, товариществ с ограниченной ответственностью, организованных хозяйств и подворий) требует особого подхода к обеспечению ветеринарного благополучия.

Одним из наиболее распространенных среди животных на территории Республики Казахстан инфекционных болезней является бруцеллез.

Это заболевание наносит не только значительный экономический ущерб животноводству, но и имеет большое социальное значение, так как при этом не редко заболевает человек.

Борьба с бруцеллезом базируется на мероприятиях, ведущих к разрыву эпизоотической цепи, основными звеньями которой является источник возбудителя

инфекции, механизм его передачи и здоровое восприимчивое животное.

Для выявления больных бруцеллезом животных предложено множество диагностических средств и методов [1]. К настоящему времени выявление инфицированных животных осуществляется, в основном, серологическими тестами (РА, РБП, РСК и др.). Вместе с тем, данные литературы свидетельствуют о ценности аллергической пробы при бруцеллезе сельскохозяйственных животных, которая не только выявляет больных особей, но и способна провоцировать латентное течение болезни, чем облегчает последующее обнаружение зараженных особей при исследовании сыворотки крови [2].

Однако ранее предложенные аллергены (бруцеллин, бруцеллизат, бруцеллогидролизат, бруцеллин-ВИЭВ) по ряду технологических и специальных причин не нашли должного применения в нашей стране. Кроме того, аллергенная фракция, выделенная из бактериальных клеток, смешанная с микробной взвесью вакцинных штаммов вызывает местную аллергическую реакцию и индуцирует иммунитет [3, 4].

В связи этим, наши исследования направлены на изыскание аллергена, который

можно применять отдельно и совместно с вакциной, что значительно сократит труд ветеринарных специалистов и ускорит оздоровление от бруцеллеза овцеголовья.

Материалы методы

Аллергены готовили из штаммов *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Rev-1 путем лизиса бактериальных клеток воздействием ультразвука, тритона (0,2%) и автоклавирования.

Осаждение крупнодисперстных соединений осуществляли методом термоизоионного фокусирования [1]. Активность и специфичность препаратов изучали перекрестно на сенсибилизированных морских свинок. Сенсибилизацию животных проводили путем многократного введения *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Rev-1. Аллергенные препараты вводили внутрикожно в объеме 0,1 см³. Читку реакции осуществляли через 24 и 48 часов после инъекции аллергенов.

Результаты и их обсуждение

Внутрикожная инъекция аллергенов, полученных из *B. abortus* 19 и *B. melitensis* Rev-1, вызвала выраженные воспалительные реакции кожи в месте введения препарата. Полученные при этом результаты отражены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 - Активность аллергенов на морских свинках, сенсибилизированных шт. 19

Аллерген из штамма <i>B. melitensis</i> Rev-1					Аллерген из штамма <i>B. abortus</i> 19		
Методы изготовления							
н-р м.св.	рН	автоклавирувание	воздействием тритоном	дизинтеграция ультразвуком	автоклавирувание	воздействие м тритоном	дизинтеграция ультразвуком
1	5.0	+	#	#	-	+	-
2	6.0	+	#	#	±	-	-
3	7.0	++	#	#	-	+++	++
4	8.0	#	#	#	#	+++	+++

Примечание: Крестами показано степень выраженности аллергической реакции

Таблица 2 – Активность аллергенов на морских свинках, сенсибилизированных шт. Rev-1

Аллерген из штамма <i>B. melitensis</i> Rev-1					Аллерген из штамма <i>B. abortus</i> 19		
Методы изготовления							
н-р м.св.	рН	автоклавирувание	воздействием тритоном	дизинтеграция ультразвуком	автоклавирувание	воздействием тритоном	дизинтеграция ультразвуком
1	5,0	+	#	#	-	#	-
2	6,0	+	#	#	±	#	#
3	7,0	++	#	#	-	#	#
4	8,0	#	#	#	#	#	#

Из данных, приведенных в таблицах 1 и 2, видно, что лучшими сенсibiliзирующими свойствами обладают *B.melitensis* Rev-1.

Аллергены из бруцелл штамма Rev-1, полученные методом ультразвуковой дезинтеграции и лизиса бактериальных клеток воздействием тритона (0.2 %), оказались несколько активнее, нежели аналогичные препараты, изготовленные из бруцелл штамма 19.

Результаты исследований показывают, что наибольшей аллергенной активностью обладают препараты, полученной методом ультразвуковой дезинтеграции и путем лизиса бактериальных клеток воздействием тритона (0,2%).

Полученные нами данные по изучению активности и специфичности аллергена из

штамма *B.melitensis* Rev-1 дали основание для изучения его сенсibiliзирующих свойств. С этой целью данный препарат парентерально (подкожно, интраперитонеально) вводили 10 здоровым несенсибилизированным морским свинкам в объеме 0,5 см³. При исследовании указанных животных через 10, 15, 30 суток после инъекции препарата во всех случаях получены отрицательные результаты, что свидетельствует об отсутствии сенсibiliзирующих свойств испытуемого аллергена.

Далее активность препарата проверяли на 10 сенсibiliзированных морских свинок в цельном виде и при различных разведениях. Полученные результаты отражены в таблице 3.

Таблица 3 – Активность аллергена в различных разведениях его в физиологическом растворе поваренной соли

Кол-во животных	Из них реагировало на аллерген					
	Цельный	1:2	1:5	1:10	1:15	1:20
10	10	10	10	10	10	5

Примечание: Во всех случаях наблюдалось четко выраженная воспалительная реакция

Данные таблицы 3 показывают, что резко выраженная аллергическая реакция наблюдалась при внутрикожном введении аллергена в разведениях до 1:15. Таким образом, полученный препарат для аллергической диагностики бруцеллеза можно применять в 10-ти кратном разведении.

Данные литературы свидетельствуют о ценности аллергической пробой при диагностике бруцеллеза с-х животных. Введение в организм животных аллергена не только вызывает воспалительную реакцию у больных животных, но и обостряет течение инфекции у инфицированного скота. В случаях латентного течения болезни феномен провокации может быть использован при дальнейших серологических исследованиях.

Предложенные ранее аллергены (бруцеллин, бруцеллизат, бруцеллогидролизат, бруцелин ВИЭВ) по ряду технологических и специальных причин не нашли должного применения в нашей стране.

В связи с этим, актуальность исследований, направленных на изыскание более активного и

специфичного аллергена не вызывает сомнений.

Сравнительное испытание аллергенов, приготовленных разными методами из различных видов бруцелл, выявило, что наиболее выраженные аллергизирующие и аллергенные свойства отмечены у *B.melitensis* Rev-1. Аллерген приготовленный по предлагаемому нами методу из *B.melitensis* Rev-1, не обладает сенсibiliзирующими свойствами.

Проведенные нами исследования по изучению активности и специфичности аллергенов, приготовленных разными методами из бруцелл различных по видовой принадлежности штаммов позволяют сделать соответствующие выводы:

1. Наиболее выраженными сенсibiliзирующими свойствами для морских свинок обладают *Brucella melitensis* Rev-1, в сравнении с *Brucella abortus* 19;

2. Наибольшая аллергенная активность обнаруживается в соответствующей фракции, выделенной из *Brucella melitensis* Rev-1;

3. Аллерген, приготовленный из штамма *Brucella melitensis* Rev-1, не обладает сенсibilизирующими свойствами при 10-ти кратном парентеральном (подкожном, интраперитонеальном) введении его здоровым несенсibilизированным морским свинкам в объеме 0,5 см³;

4. Аллерген, полученный путем дезинтеграции бруцелл энергией ультразвуковых волн, проявляет выраженную активность при внутрикожном введении его в разведение до 1:15. Таким образом, полученный препарат для аллергической диагностики бруцеллеза можно применять в 10-ти кратном разведении.

Литература

- 1 Иванов Н.П. Бруцеллез животных методы и средства борьбы с ним. - Алматы, 2007. – 601 с.
- 2 Бакиева Ф.А. Разработка одновременной диагностики и профилактики бруцеллеза мелкого рогатого скота // Автореф. дисс....кан. вет. наук. – Алматы, 2010. - 25 с.
- 3 Тен В.Б. Методологические основы изготовления и совершенствования профилактических противобруцеллезных препаратов и диагностических средств: Автореф. дисс....док. вет. наук. – Алматы, 1996. - 45 с.
- 4 Султанов А.А. Оптимизация специальных противобруцеллезных мероприятий в овцеводстве // Автореф. дисс....докт.вет.наук. – Новосибирск, 1992. – 40 с.