

УДК: 619:616.981.42.

**РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ МЕТОДОВ ПОЛУЧЕНИЯ
АЛЛЕРГЕНОВ И ИСПЫТАНИЯ ИХ АКТИВНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ
В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ.**

<https://doi.org/10.5281/zenodo.7893250>

А.Д.Улугмурадов

д.ф.в.н.,

М.А.Рузимуродов

к.в.н.

Научно-исследовательский институт ветеринарии Республика Узбекистан.

E-mail: nivi@vetgov.uz

Аннотация.

В статье представлена разработка инновационных методов получения бруцеллезных аллергенов и испытания их активности и специфичности в лабораторных условиях НИИВетеринарии.

Ключевые слова.

Аллерген, бруцеллёз, активность, специфичность, метод, диагностика, контаминация, препараты.

Введение. Аллергия – это измененная реактивность организма вследствие предшествующей чувствительности. Впервые термин аллергия (от греческого «аллос» – другой, «эргогон» – движение) был предложен Пирке в 1906 г. на основании изучения патологической реакции человека на повторное введение чужеродной сыворотки (сывороточная болезнь) [1; 2; 3.].

Аллергодиагностика занимает основное и важное место в комплексе санитарно-гигиенических мероприятий, проводимых при бруцеллезе, поэтому она рекомендована Международным Эпизоотическим Бюром (МЭБ) как надежный тест для оценки здоровья стада.

Цель и задачи. Разработка инновационных методов получения аллергенов и испытания их активности и специфичности в бруцеллезной лаборатории НИИВ.

Методика. Согласно методикам Осидзе Д.Ф. Ветеринарные препараты [5].

Результаты. Аллергены готовили путем инкубации культур №1 (условно обозначенный), №2 и №3, и №9 в МППГБ при +37°C в течение 10-15 дней. Каждые 48 часов рост культур в МППГБ исследовали под микроскопом по методу Козловского и постоянно контролировали контаминацию. рН и плотность микробных клеток проверяли по оптическому стандарту мутности Л.А.Тарасевича. При снижении рН в ходе испытания подщелачивали 4% стерильным раствором едкого натрия до достижения рН 7,2-7,4.

По окончании периода культивирования проверяли чистоту бульонной среды и разделяли среды, в которых выращивался каждая культура, на две части. Первую часть нагревали при температуре +95°C +100°C в течение 30 минут. После охлаждения пищевой среды ее центрифугировали на суперцентрифуге при 10-15 тыс. об/мин в течение 10 минут. После этого полученный концентрат аллергена пропускали через стерильные ватно-марлевые фильтры (способ 1).

Вторую часть культуральной жидкости замораживали в полистироловом контейнере при температуре -20°C, помещали на горячую водяную баню (+90°C и выше) и сразу после снятия с водяной бани оттаивали. Эта ситуация повторилась трижды. После последнего растворения имеющуюся бактериальную массу центрифугировали на суперцентрифуге при 10-15 тыс. об/мин в течение 10 минут и пропускали через стерильные ватно-марлевые фильтры (метод 2).

Агглютиногенность, токсичность, реактогенность, специфичность и свойства активности экспериментальных рядов аллергенов, полученных из каждой культуры, исследовали на 15 белых мышах и морских свинках и 15 овцах в лабораторных условиях.

Масса суспензий белым мышам (18-20 гр.) вводили дозу 0,25 мл под кожу плечевой области с соблюдением правил асептики и антисептики. Морским свинкам (с весом 370-450 гр.) вводили дозу 1 мл под кожу в области внутренней части стороны бедра. В качестве контроля использовали 3 мышей и морских свинок, которым не вводили бруцелл.

Экспериментальные серии аллергенов, приготовленные из каждой культуры, были испытаны на 3 овцах. Инъекции разделены на группы по 0,5 мл под кожу левого нижнего века. Аллергены вводили методом пальпебральной пробы, с соблюдением правил асептики и антисептики.

Всего аллергены вводили 12 овцам 4 типов культур. В качестве контроля использовали 3 головы неинъекционированных аллергеном овец.

Перед введением аллергена у морских свинок и 15 овец у них брали кровь и тестировали на РБП и РА. За животными в опыте наблюдали в течение 3-7 дней, ежедневно проводили термометрию. Через 15-20 дней у этих овец брали кровь и тестировали их сыворотку на РБП и РА, и были получены отрицательные результаты.

В последующих исследованиях этих овец также повторно использовали для проверки активности аллергодиагностикомов после вакцинации различными бруцеллезными вакцинами.

Таким образом, проведенные исследования показали, что экспериментальные аллергены, приготовленные из местных культур №1, №2, №3, №9 не оказывали токсического действия, были безвредны, не обладали антигенной (агглютиногенной) активностью и эти показатели, по которым они соответствовали требованиям, предъявляемым к аллергенам бруцеллеза.

При испытании экспериментальных серий аллергенов, приготовленных из каждой культуры, на овцах, вакцинированных различными вакцинами против бруцеллеза, были получены следующие результаты (см. табл.).

За овцами в опыте наблюдали в течение 3-5 дней после введения диагностического средства, их кормили и давали воду в обычном порядке, при этом каких-либо существенных физиологических изменений у них не наблюдали.

Таблица.

Результаты аллергической активности экспериментальных образцов аллергодиагностических средств, приготовленных из разных культур на вакцинированных овцах.

№ пп	№	Вид отного	особи	Дата вакцинации	Аллергодиагностикомы из культур <i>abortus</i> и <i>melitensis</i>			
					№1	№2	№3	№9
I.	1	м.р.с.	овца	15.10.2019 г	+			
	2	м.р.с.	баран		+			
	3	м.р.с.	баран		+			
II.	1	м.р.с.	овца	15.10.2019 г		+		
	2	м.р.с.	овца			+		
	3	м.р.с.	овца			+		
III.	1	м.р.с.	овца	15.10.2019 г			+	
	2	м.р.с.	баран				+	
	3	м.р.с.	овца				+	

IV.	1	м.р.с.	баран	15.10.2019 г				+
	2	м.р.с.	овца					+
	3	м.р.с.	баран					+
К.	1	м.р.с.	баран	невакциниро ые	-	-	-	-
	2	м.р.с.	баран		-	-	-	-
	3	м.р.с.	баран		-	-	-	-

Результаты по аллергенам учитывали каждые 48-72 часа. Полные результаты наблюдались через 48 часов, и у всех вакцинированных овец развились опухоли различных размеров в местах введения тестовых серий аллергенов. Это определялось, как положительная реакция местных аллергодиагностических проб и свидетельствовало о высокой активности исследуемых препаратов.

Выводы.

1. Разработаны инновационные методы получения аллергенов и проведены испытания их активности и специфичности в лабораторных условиях.

2. На основании результатов, полученных в лабораторных условиях, то есть с учетом чувствительности, антигенности и активности экспериментальных аллергодиагностических средств, принято решение о продолжении испытаний в производственных условиях с разрешения Госкомветеринарии и развития животноводства Республики Узбекистан.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Коляков Я.К., Коляков Я.Е. Ветеринарная иммунология // Москва: Агропромиздат, 1986.- (272 с). С.202-214.

2. Воронин Е.С. и др. Иммунология: учебник / под ред. Е.С.Воронина // М.: Колос-Пресс, 2002. – 408 с.

3. Радчук Н.А. Ветеринарная микробиология и иммунология: учебник / ред. Н.А. Радчук // М.: Агропромиздат, 1991. – 383 с.

4. ГОСТ 34579-2019. Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Аллергический метод / ГОСТ от 22 октября 2019 г. № 34579-2019.

5. Осидзе Д.Ф. Ветеринарные препараты // Справочник. Москва. Колос. – 1981 – С.185-188.

6. Саидова Б.М., Ахмедов Д.Р., Саидов М.С. Аллергодиагностика бруцеллеза // Ж. Клиническая Лабораторная Диагностика, № 3, 2013. С.16-17.