

УДК: 615.383:579.834.115Leptospira-001.8

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕПТОСПИРОЗНОЙ СЫВОРОТКИ, ПОЛУЧЕННОЙ К ЖИВЫМ ВИРУЛЕНТНЫМ И ИНАКТИВИРОВАННЫМ ШТАММАМ

Н.М. Андреевская, В.А. Михайлова, Н.В. Бренёва,
Е.Ю. Киселева, А.Г. Атлас

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт
Роспотребнадзора, Иркутск

Получены кроличьи лептоспирозные высокоактивные и высокоспецифичные сыворотки с использованием в качестве антигенов живых вирулентных и инактивированных прогреванием культур. Применение стабилизатора увеличивает срок годности сывороток лептоспирозных сухих до 5 лет.

Ключевые слова: сыворотки к штаммам лептоспир, специфическая активность и специфичность, стабилизатор.

EVALUATION OF THE LEPTOSPIROSIS SERUM EFFICIENCY TO LIVE VIRULENT AND INACTIVATED STRAINS

N.M. Andreevskaya, V.A. Mikhailova, N.V. Breneva, E.Yu. Kiseleva, A.G. Atlas

Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, Irkutsk

Highly active and specific rabbit leptospirosis sera were prepared using live virulent and heat inactivated cultures as antigens. The stabilizer application increased expiration date of dry Leptospira sera till 5 years.

Key words: sera to Leptospira strains, specific activity and specificity, the stabilizer.

Среди зоонозных инфекций лептоспирозы занимают одно из первых мест по тяжести клинического течения, частоте летальных исходов и отдаленных клинических последствий. Низкие показатели регистрируемой заболеваемости в большинстве стран мира, включая Россию, обусловлены неудовлетворительным состоянием дифференциальной клинической и лабораторной диагностики. Лабораторные методы исследования играют решающую роль в постановке диагноза. При этом наряду с бактериологическими методами дополнительно проводят идентификацию лептоспир в реакции микроагглютинации (РМА) со специфической лептоспирозной сывороткой [3]. Выделенные штаммы лептоспир идентифицируют до серогруппы с помощью набора диагностических агглютинирующих сывороток, выпускаемых ФГУП «Армавирская биофабрика», которые получают путем иммунизации кроликов культурой лептоспир и имеют срок годности 2 года.

Цель работы – получение кроличьих лептоспирозных сывороток к эталонным штаммам *Leptospira borgpetersenii* серовар *javanica* Veldrat Bataviae 46 и *Leptospira kirschneri* серовар *hebdomadis* Kabura против живых вирулентных и инактивированных культур возбудителя, оценка их активности и специфичности.

Материалы и методы

В качестве животных–продуцентов диагностической лептоспирозной сыворотки использовали кроликов породы шиншилла весом 2,5–3 кг. Иммунизацию проводили живой вирулентной культурой лептоспир из эталонных штаммов серогрупп *Javanica* и *Hebdomadis*, выращенной в жидкой среде Элленгаузена-МакКалоха в модификации Джонсона-Харриса – ЕМЖН (*Becton Dickinson*) в течение 10–14 суток при температуре 28 ± 1 °C, и культурами этих же штаммов, выращенных при тех же условиях, инактивированных прогреванием при температуре 56 ± 1 °C в течение 30 мин. Рост микроорганизмов определяли в жидкой среде по 3–4 балльной системе, что соответствовало 70–100 микробных клеток в поле зрения микроскопа ($\times 400$) при активной их подвижности.

Процесс получения лептоспирозных сывороток путем заражения кроликов живой вирулентной культурой необходимо проводить в заражном блоке с соблюдением санитарных правил [1].

Для получения лептоспирозной сыворотки провели опыт на восьми кроликах, которых разделили на две группы. Кроликов обеих групп иммунизировали по одинаковой схеме живой вирулентной культурой лептоспир и инактивированной прогреванием эталонных штаммов *Veldrat Bataviae* 46 и *Ka-*

bura, выращенных в жидкой среде. Животным вводили культуру трёхкратно внутривенно в объёме 1 мл, 1,5 мл и 2 мл с интервалом 4 суток. Через семь дней после последней инъекции у всех кроликов проводили забор крови, и в сыворотках определяли титр специфических антител. Тотальное кровопускание кроликов проводили при титре антител в РМА не ниже 1:12800.

Активность полученных сывороток проверяли с использованием референсных штаммов лептоспир серогрупп *Javanica*, *Hebdomadis*, а специфичность – М-20 *Icterohaemorrhagiae*, Каширский *Canicola*, *Pomona Pomona*, *Moskva V Grippotyphosa*, 3705 *Sejroe*, Перепелицин *Tarassovi*, *Akiyami A Autumnalis*, Еж 1 *Australis*, HS 26 *Bataviae* в соответствии с МУ [4].

Сыворотку консервировали добавлением борной кислоты и стабилизировали смесью тиосульфата натрия и сахарозы до проведения стерилизующей фильтрации, разливали в ампулы по 1 мл и лиофилизировали.

Для изучения стабильности сывороток применяли множественный изотермический тест на ускоренное разрушение антител [5].

Результаты опытов подвергали статистической обработке по В. Монцевичюте-Эрингене [2].

Результаты и обсуждение

При определении специфической активности лептоспирозных сывороток к серогруппам *Javanica* и *Hebdomadis* выявили, что титры антител сывороток, полученных при иммунизации кроликов живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами, практически не отличались и достигали 1:12800 – 1:51200.

При изучении специфичности установлено, что лептоспирозные сыворотки, полученные при иммунизации кроликов живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами штамма *Veldrat Bataviae* 46 (серогруппа *Javanica*), не реагировали со штаммом *Kabura* (серогруппа *Hebdomadis*), и наоборот. Кроме того, сыворотки не реагировали с референсными штаммами других серогрупп: М-20 *Icterohaemorrhagiae*, Каширский *Canicola*, *Pomona Pomona*, *Moskva V Grippotyphosa*, 3705 *Sejroe*, Перепелицин *Tarassovi*, *Akiyami A Autumnalis*, Еж 1 *Australis*, HS 26 *Bataviae*.

Стабильность специфической активности является основным показателем выпускаемых диагностических сывороток. Поэтому посчитали целесообразным изучить термостабильность сывороток лептоспирозных сухих в тесте ускоренного разрушения антител при температуре 70 °С. Показатели термостабильности сывороток представлены в таблице.

Показано, что все кроличьи сыворотки проявили исключительную стабильность в течение 30 суток, титр антител оставался на уровне исходного. Используя результаты множественного изотермического теста и применив экспоненциальную регрессию [5] спрогнозировали, что срок годности сывороток лептоспирозных сухих составляет ≈ 5 лет. Установлено, что в тесте ускоренного разрушения антител стабилизатор повышает их устойчивость при хранении в условиях повышенных температур.

Таблица

Термостабильность лептоспирозных сывороток сухих в тесте ускоренного разрушения антител при температуре 70 °С

№№ кроликов	Иммунизация кроликов штаммами		Исходный титр антител	Обратные значения среднеарифметических титров антител в РМА через интервалы времени в сутках				Титры антител при температуре хранения 8 °С в течение 30 суток (контроль)
				10	20	25	30	
1	Живой культурой	<i>Veldrat Bataviae</i> 46	1:12800	11900±250	12600±256	11898±676	12200±176	1:12800
2		<i>Kabura</i>	1:6400	7000±320	6985±500	6355±758	7245±350	1:6400
3			1:12800	13300±381	12930±273	12672±101	12890±023	1:12800
4		<i>Kabura</i>	1:12800	14440±325	13522±305	12744±656	12999±116	1:12800
5	Инактивированной культурой	<i>Veldrat Bataviae</i> 46	1:12800	14800±603	13563±212	13542±527	13963±802	1:12800
6		<i>Kabura</i>	1:6400	7200±511	6800±509	6547±399	6809±301	1:6400
7			1:25600	23900±330	25900±222	24566±452	25985±212	1:25600
8		<i>Kabura</i>	1:51200	53800±425	54095±333	51453±526	50950±333	1:51200

Заключение

Специфическая активность и специфичность сывороток кроличьих лептоспирозных, полученных при иммунизации живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами возбудителя, не отличаются.

В экспериментальном производстве лептоспирозных сывороток возможно использование в качестве антигена биологически безопасных инактивированных штаммов, что исключает необходимость проведения работ в заражном блоке.

Срок годности кроличьей лептоспирозной лиофилизированной сыворотки с применением стабилизатора составляет 5 лет.

Литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней: СП 1.3.2322-08. – М.: Минздрав России, 2008. – 44 с.
2. Монцевичюте-Эрингене В. Статистическая обработка результатов // Патология, физиология и экспериментальная терапия. – 1964. – № 4. – С. 71-78.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней // Прак. руководство. – М.: Шико, 2013. – С. 489-490.
4. Эпидемиология, диагностика и профилактика заболевания людей лептоспирозами: МУ 3.1.1128-02. – М.: Минздрав России, 2002. – 44 с.
5. Jameson P., Creiff D., Sidney E., Crossber C. Thermal stability of freeze-dried mammalian interferons: analysis of freeze-drying conditions and accelerated storage test for murine interferon // J. Criobiology. – 1979. – № 16. – P. 301-314.

Ответственный автор

Андреевская Нина Михайловна – старший научный сотрудник научно-производственного отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952)-22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.932:579.843.1Vibrio:57.063.8]-07(470+571)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ICEs ЭЛЕМЕНТОВ СЕМЕЙСТВА SXT/R391 В ШТАММАХ *VIBRIO CHOLERAЕ*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

М.В. Подшивалова¹, И.Б. Захарова¹, Я.А. Лопастейская¹, Л.М. Веркина²,
Н.А. Селянская², Д.В. Виктор¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

В работе представлены результаты исследований антибиотикорезистентных штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на территории РФ в период 2009 – 2013 гг. В штаммах, устойчивых к триметоприму/сульфаметоксазолу, детектирован интегративный элемент (ICE) семейства SXT/R391. При типировании выявленных ICE в мультилокусной ПЦР показана их принадлежность к SXT^{ET} вариантам, несущим последовательности *suIII* и *dfrA1*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, SXT элемент, полимеразная цепная реакция.