

**ВИВЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ТА СПЕЦИФІЧНОСТІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЗРАЗКІВ
КАМПІЛОБАКТЕРІОЗНИХ АНТИГЕНІВ (*CAMPYLOBACTER FETUS SSP. FETUS*;
CAMPYLOBACTER FETUS SSP. VENERIALIS) В РЕАКЦІЇ АГЛЮТИНАЦІЇ**

Обуховська О. В., Драгуть С. С., Марченко Н. В., Калініченко Т. В., Куценко В. А.
Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,
м. Харків, Україна, e-mail: olgaobukhovska@gmail.com

Коломієць Ю. В.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Метою роботи було проведення дослідів з вивчення активності та специфічності експериментальних зразків кампілобактеріозних антигенів, виготовлених з виробничих штамів LBV (*Campylobacter fetus subspecies venerialis*; *C.f. ssp. venerialis*) та LBF (*Campylobacter fetus subspecies fetus*; *C.f. ssp. fetus*) в реакції аглютинації. При цьому встановлена їх активність та специфічність, підтверджена доцільність та перспективність роботи для розробки вітчизняних прижиттєвих діагностикумів.

Ключові слова: кампілобактеріоз, серологічна діагностика, реакція аглютинації

Кампілобактеріоз – інфекційна хвороба, переважно великої рогатої худоби та овець, яка проявляється враженням статевих органів, перегулами, безпліддям (20–50 % корів та до 60 % телиць), масовими абортами, які майже завжди ускладнюються затриманням посліду, вагінітами та метритами і народженням нежиттєздатного приплоду. У биків захворювання проходить безсимптомно, супроводжується тривалим кампілобактеріоносійством.

Діагноз встановлюють на основі клініко-епізоотологічних даних і бактеріологічного дослідження патматеріалу. Проте, перегули і яловість у корів, телиць, народження слабкого молодняка, який хворіє (інфекція зумовлює ураження кишок) та гине на 2–7-у добу життя, дозволяють лише запідозрити кампілобактеріоз. Для уточнення діагнозу необхідні лабораторні дослідження, насамперед, бактеріологічні. Але кампілобактер – поліморфний мікроорганізм, не дуже стійкий в навколишньому середовищі; не легко піддається виділенню. Тому в арсеналі фахівців для встановлення попереднього діагнозу на кампілобактеріоз повинні бути серологічні методи, застосування яких дозволить підвищити збереженість тварин та вихід здорового молодняка, що забезпечить розвиток вітчизняного скотарства, вівчарства. Так, для орієнтованої діагностики хвороби у ВРХ застосовують реакцію аглютинації з піхвовим слизом (РАВС). Сучасні методи включають імуоферментні тест-системи, полімеразно-ланцюгову реакцію, ін. [1, 2].

Мета роботи – вивчення активності та специфічності експериментальних зразків кампілобактеріозних антигенів у пробірковій та пластинчатій реакції аглютинації (РА).

Матеріали та методи. У дослідженнях були використані експериментальні зразки антигенів, які були виготовлені зі задепонованих в ДНКІБШМ штамів LBV (*Campylobacter fetus subspecies venerialis*; *C.f. ssp. venerialis*) та LBF (*Campylobacter fetus subspecies fetus*; *C.f. ssp. fetus*).

У дослідах використовували сироватки кампілобактеріозні контрольні, одержані на кролях на базі віварію ННЦ «ІЕКВМ», стандартні кампілобактеріозні моноспецифічні комерційні, а також дослідні, вибірково відібрані від корів (25 голів) одного з господарств Харківської області.

Пробіркову та пластинчату РА ставили загальноприйнятими методами. При постановці РА в пробірках результати вважали специфічними при відсутності аглютинації в контрольних пробірках.

У РА на склі (на знежирених предметних скельцях) позитивна реакція характеризувалася з'явленням аглютинації у вигляді мілких комочків та хлоп'їв. При негативній реакції рідина залишалася рівномірно мутною.

Результати досліджень. Дослідженню було піддано чотири експериментальних зразки кампілобактеріозних антигенів (два підвиду *C.f. ssp. venerialis* та два підвиду *C.f. ssp. fetus*). Усі антигени виготовляли за розробленою оригінальною методикою. Антигени I-АГ зі штаму LBV та I-АГ зі штаму LBF 2015 року виготовлення і II-АГ зі штаму LBV та II-АГ зі штаму LBF від 2016 року виготовлення різнилися лише за кількістю інактиванту та режиму інактивації сировини. Повноту інактивації перевіряли посівами рідин у напіврідкий агар. Вся експериментальна сировина була інактивованою.

Активність та специфічність антигенів на початку дослідів вивчали в пластинчатій РА (табл. 1).

За даними таблиці, зі стандартними кампілобактеріозними моноспецифічними сироватками з усіма антигенами отримані однакові результати, які показали їх активність та специфічність.

З контрольними кролячими сироватками найбільш активними та специфічними антигенами є II-АГ зі штаму LBV та II-АГ зі штаму LBF 2016 року виготовлення. Тож, активність кампілобактеріозних антигенів залежить від активності інактивованої сировини та терміну зберігання готового продукту. Далі працювали з цими антигенами.

Таблиця 1 – Активність та специфічність контрольних і стандартних кампілобактеріозних сироваток з антигенами зі штамів LBV (*C.f. ssp. venerealis*) та LBF (*C.f. ssp. fetus*) у пластинчатій РА

Сироватки		<i>C. f. ssp. venerealis</i>			<i>C. f. ssp. fetus</i>	
		LBV	LBV-I	LBV-II	LBF-I	LBF-II
I-АГ зі штаму LBV 2015 р.						
Контрольна кампілобактеріозна кроляча	нативна	#	#	#	++	++
	1/10	#	#	#	-	-
	1/20	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
Стандартна кампілобактеріозна моноспецифічна		<i>C. f. ssp. venerealis</i> +++			<i>C. f. ssp. fetus</i> -	
II-АГ зі штаму LBF 2015 р.						
Контрольна кампілобактеріозна кроляча	нативна	-	-	-	#	#
	1/10	-	-	-	++	++
	1/20	-	-	-	+	+
Стандартна кампілобактеріозна моноспецифічна		<i>C. f. ssp. venerealis</i> -			<i>C. f. ssp. fetus</i> ++	
II-АГ зі штаму LBV 2016 р.						
Контрольна кампілобактеріозна кроляча	нативна	#	#	#	-	-
	1/10	#	+++	#	-	-
	1/20	#	+	+++	-	-
	1/40	#	-	+	-	-
Стандартна кампілобактеріозна моно специфічна		<i>C. f. ssp. venerealis</i> +++			<i>C. f. ssp. fetus</i> -	
II-АГ зі штаму LBF 2016 р.						
Контрольна кампілобактеріозна кроляча	нативна	-	-	-	#	#
	1/10	-	-	-	+++	#
	1/20	-	-	-	+++	+++
	1/40	-	-	-	+	++
Стандартна кампілобактеріозна моноспецифічна		<i>C. f. ssp. venerealis</i> -			<i>C. f. ssp. fetus</i> ++	

Примітка: н/д – не досліджували

У таблиці 2 представлені результати активності дослідних сироваток від корів у пластинчатій РА з кампілобактеріозними антигенами двох підвидів: LBV (*C.f. ssp. venerealis*) та LBF (*C.f. ssp. fetus*).

Таблиця 2 – Активність дослідних сироваток від корів господарства Харківської області в пластинчатій РА з антигенами зі штамів LBV (*C.f. ssp. venerealis*) та LBF (*C.f. ssp. fetus*)

№№ з/п	Інвентарний номер тварин	<i>C.f. ssp. venerealis</i>	<i>C.f. ssp. fetus</i>	№№ з/п	Інвентарний номер тварин	<i>C.f. ssp. venerealis</i>	<i>C.f. ssp. fetus</i>
1.	88746690	+	-	14.	389724110	-	+
2.	79814332	+	+	15.	248723897	#	-
3.	1068814252	++	+	16.	75814864	#	++

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

4.	597776543	+	+	17.	1195814801	#	+
5.	744776818	+++	+	18.	1061232145	#	+++
6.	435746746	++	++	19.	849675731	#	+
7.	784746835	++	+	20.	309724113	#	-
8.	265232634	#	+	21.	384814253	+++	-
9.	256746928	#	-	22.	1086814781	++	-
10.	654746992	#	+	23.	1019814922	#	++
11.	391601254	#	+++	24.	413699190	#	-
12.	519676053	#	+	25.	1260814286	++	-
13.	1103601331	#	-	-	-	-	-

Примітка: проби сироваток відібрані вибірково

Представлені дані свідчать про можливість циркуляції серед корів одного з господарств Харківської області збудників обох підвидів кампілобактерій (*C.f. ssp. fetus*, *C.f. ssp. venerealis*), серед яких превалює останній.

Надалі випробували антигени в пробірковій РА. Для обчислювання робочої дози антигену визначали у порівняльному аспекті активність контрольних та дослідних сироваток з використанням антигену LBV (*C.f. ssp. venerealis*) в різних концентраціях (табл. 3).

Таблиця 3 – Активність кампілобактеріозних кролячих та дослідних сироваток від корів у пробірковій РА з антигеном зі штаму LBV (*C.f. ssp. venerealis*) в різних концентраціях (АГ-1 та АГ-2)

Сироватки дослідні та контрольні	Розведення сироваток												
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	
	облік через 17 год. за t=37 °C та 24 год. за кімнатної температури						облік через 17 год. за t=37 °C та 48 год. за кімнатної температури						
Дослідні від корів дослідного господарства	№ 23												
	АГ-1	#	#	++	+	-	-	#	#	++	-	-	-
	АГ-2	#	++	+	+	-	-	#	++	+	-	-	-
	№ 24												
	АГ-1	#	#	+	-	-	-	+++	+++	+	-	-	-
	АГ-2	#	++	+	-	-	-	+++	++	+	-	-	-
	№ 25												
	АГ-1	+++	+	-	-	-	-	+++	+	-	-	-	-
АГ-2	+++	+	-	-	-	-	+++	+	-	-	-	-	
Нормальна кроляча													
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Кампілобактеріозна кроляча зі штаму LBV													
АГ-1	#	#	#	+++	++	+	#	#	#	++	+	-	
АГ-2	#	#	#	+++	+++	+	#	#	#	++	++	+	

Результати таблиці свідчать про більш високу активність сироваток при використанні антигену зі штаму LBV в концентрації АГ-1 порівняно з такою АГ-2. У подальшому в пробірковій РА використовували концентрацію АГ-1.

Облік реакції проводили після витримування реакції протягом 17 годин за температури 37 °C та 24 і 48 годин за кімнатної температури. При цьому збільшення тривалості витримування реакції за кімнатної температури до двох діб приводило до незначного зниження активності сироваток, зокрема дослідної від корови № 24 (в розведеннях 1:25 з двома антигенами та 1:50 з АГ-1 з # до +++) та кампілобактеріозної кролячої зі штаму LBV (у розведеннях 1:200-1:800 з +++ до ++, з ++ до +, з + до негативної реакції).

У таблиці 4 надані результати активності, відповідно, кампілобактеріозних контрольних кролячих, стандартних кампілобюактеріозних моноспецифічних та дослідних сироваток від корів у пробірковій РА з кампілобактеріозними антигенами двох підвидів: LBV (*C.f. ssp. venerealis*) та LBF (*C.f. ssp. fetus*).

Таблиця 4 – Активність та специфічність контрольних і стандартних кампілобактеріозних сироваток й результати дослідження сироваток від корів з антигенами зі штамів LBV (*C.f. ssp. venerealis*) та LBF (*C.f. ssp. fetus*) у пробірковій РА

Сироватки		<i>C.f. ssp. fetus</i>					<i>C.f. ssp. venerealis</i>					
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800
контрольні кролячі												
1.	LBV (<i>C.f. ssp. venerealis</i>)	-	-	-	-	-	#	#	#	#	#	+++
2.	LBV-I	-	-	-	-	-	#	#	#	+++	+++	++
3.	LBV-II	-	-	-	-	-	#	#	#	+++	++	+
4.	LBF-I (<i>C.f. ssp. fetus</i>)	#	#	#	+++	+++	-	-	-	-	-	-
5.	LBF-II	#	+++	+++	+++	++	-	-	-	-	-	-
стандартні кампілобактеріозні моно специфічні												
1.	<i>C.f. ssp. venerealis</i>	-	-	-	-	-	#	#	#	+++	++	+
2.	<i>C.f. ssp. fetus</i>	#	#	++	+	-	-	-	-	-	-	-
дослідні (від корів господарства Харківської області)												
1.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+	+	-	-	-	-
2.		++	+	-	-	-	+++	++	+	-	-	-
3.		++	+	-	-	-	#	+++	++	-	-	-
4.		+	+	-	-	-	+++	++	+	-	-	-
5.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	#	+++	++	-	-	-
6.		++	+	+	-	-	#	++	+	-	-	-
7.		++	+	-	-	-	#	++	+	+	-	-
8.		+	+	±	-	-	#	#	++	+	-	-
9.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+++	++	+	-	-	-
10.		++	+	-	-	-	#	#	+++	++	+	-
11.		+	-	-	-	-	+++	++	+	-	-	-
12.		+++	++	+	-	-	#	+++	++	+	-	-
13.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+++	++	+	-	-	-
14.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+++	++	+	-	-	-
15.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	#	#	++	-	-	-
16.		+	-	-	-	-	+++	++	+	-	-	-
17.		++	++	-	-	-	#	+++	+	-	-	-
18.		#	++	+	-	-	+++	++	++	+	-	-
19.		н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	#	+++	++	+	-	-

Розділ 2. Ветеринарна вірусологія та мікробіологія

20.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	#	#	+++	++	+	-
21.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+++	+++	++	+	-	-
22.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	++	+	-	-	-	-
23.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+++	++	+	-	-	-
24.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	#	+++	+++	+	-	-
25.	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	+	-	-	-	-	-

За допомоги пробіркової РА встановили активність та специфічність кампілобактеріозних кролячих і стандартних сироваток. При цьому визначені найбільш активні контрольні кролячі сироватки – це LBV (*C.f. ssp. venerialis*) та LBF-I (*C.f. ssp.fetus*). Титр стандартних моноспецифічних сироваток визначений 1:100 *C.f. ssp.fetus* та 1:400 *C.f. ssp. venerialis*.

Отже, можна зробити підсумок щодо активності та специфічності одержаних кампілобактеріозних антигенів, виготовлених у 2016 році з виробничих штамів LBF (*C.f. ssp.fetus*) та LBV (*C.f. ssp. venerialis*).

Перспективи подальших досліджень. Наведені результати підтверджують доцільність проведеної роботи. Подальші дослідження щодо розробки вітчизняних прижиттєвих засобів діагностики, перспективність яких не має сумніву, тривають.

Висновки. Для серологічної діагностики тварин щодо кампілобактеріозу ефективним методом є реакція аглютинації (РА), як пластинчата, так і пробіркова. Встановлена активність та специфічність експериментальних зразків кампілобактеріозних антигенів, виготовлених за розробленою оригінальною методикою. Підтверджена придатність використання виробничих штамів LBF (*C.f. ssp.fetus*) та LBV (*C.f. ssp. venerialis*) з метою виготовлення кампілобактеріозних антигенів для РА.

Доказана можливість одержання кампілобактеріозних кролячих сироваток підвидів *C.f. ssp.fetus* та *C.f. ssp. venerialis* з титром, не нижчим за 1:400 та 1:800, відповідно.

За результатами як пластинчатої, так і пробіркової РА показана наявність кампілобактеріозних антитіл у корів одного з господарств Харківської області до обох підвидів *C.f. ssp. fetus* та *C.f. ssp. venerialis*, серед яких превалує останній. Це свідчить про можливість циркуляції серед поголів'я ВРХ у господарствах Харківської області збудників обох підвидів кампілобактерій.

Список літератури

1. Кампілобактеріоз [Електронний ресурс] //Аграрний сектор України.-Режим доступу : URL : <http://agroua.net/animals/veterinary/diseases/g1-2/g2-4/d-6.html>.-20.04.2016.-Назва з екрану.
2. Кампілобактеріоз великої рогатої худоби [Електронний ресурс] //Медична бібліотека.- Режим доступу : URL : <http://medbib.in.ua/kampilobakterioz-krupnogo-rogatogo.html>.-14.04.2016.-Назва з екрану.

STUDY ACTIVITY AND SPECIFICITY OF EXPERIMENTAL SAMPLES OF CAMPYLOBACTERIOSIS ANTIGENS (*CAMPYLOBACTER FETUS* SPP. *FETUS*; *CAMPYLOBACTER FETUS* SPP. *VENERIALIS*) IN AGGLUTINATION TEST

Obukhovska O. V., Dragut S. S., Marchenko N. V., Kalinichenko T. V., Kutsenko V. A.

National Science Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Kolomiets Yu. V.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

The goal of the research was to conduct the experiments on the activity and specificity of experimental samples of campylobacteriosis antigens that produced from industrial LBV strains (Campylobacter fetus subspecies venerialis; C.f. ssp. venerialis) and LBF strains (Campylobacter fetus subspecies fetus; C.f. ssp fetus) in the agglutination test. Their activity and specificity was obtained. The feasibility and prospects of homeland vital diagnostics development was established.

Keywords: campylobacteriosis, serological diagnostics, agglutination test