

УДК 615.371+619.3:616.981.42:615.371

А. А. НАВАСАРДЯН, Г. А. ШАКАРЯН, Г. В. КОЧИКЯН

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ НА ФОНЕ
ПРИМЕНЕНИЯ НЕОМИЦИНА

Установлено, что при раннем (одновременно с вакциной) введении неомицина в дозе 10 и 20 тыс. ед./кг в организм овец, иммунизированных противобруцеллезной вакциной, уровень поствакцинальных антител значительно снижен по сравнению с контрольными. При позднем (через 7 дней после иммунизации) введении тех же доз препарата величина титров антител аналогична таковым у контрольных. В начале вакцинального процесса синтезировались макроглобулины, несколько позже—микроглобулины, а в конце наблюдения (120-й день после иммунизации) выявленные антитела относились к обоим классам иммуноглобулинов. Неполные антитела в пробе Кумбса относились к микроглобулинам.

Вопрос о влиянии антибиотиков на продукцию полных и неполных антител, сроках их появления, а также различиях в их титрах в процессе иммуногенеза в литературе освещен недостаточно.

Задача настоящей работы заключалась в изучении характера влияния неомицина на динамику образования поствакцинальных антител и физико-химической природы последних при иммунизации животных противобруцеллезной вакциной.

При разработке указанного вопроса в качестве биологических объектов мы выбрали овец, являющихся высокочувствительными к бруцеллезной инфекции; сыворотка этих животных позволяет применение ряда тестов, характеризующих иммунологическую перестройку организма.

Наблюдения проводили в условиях производства на серостерильных к бруцеллезу овцах, иммунизированных противобруцеллезной вакциной штамма № 19 согласно инструкции. Неомицин, растворенный в 0,5% стерильном растворе новокаина, вводили животным внутримышечно один раз в сутки в течение 7 дней. I и II группы подопытных животных получали неомицин соответственно в дозах 10 и 20 тыс. ед./кг в сутки одновременно с введением вакцины; III и IV группы получали те же дозы препарата спустя 7 дней после начала иммунизации; V группа животных служила контролем.

Содержание антител в сыворотке крови животных определяли с 7-го дня после иммунизации в течение 4 месяцев, при этом в течение первого месяца—еженедельно, второго—с интервалом в 15 дней и дважды в течение последующих 2 месяцев. В каждый срок исследовались сыворотки как отдельных животных, так и групповая смесь для получения фракций, содержащих разные классы иммуноглобулинов.

Сывороточные фракции получали посредством гель-фильтрации на колонке с сефадексом Г-200. В полученных порциях определяли концентрацию белка на спектрофотометре при длине волны 280 мкк. Для серологических реакций брали смесь элюатов двух-трех пробирок каждой фракции с наибольшим содержанием белка. В отдельных сыворотках, а также в полученных фракциях определяли содержание полных антител в реакциях агглютинации (РА) и длительного связывания комплемента на холоду (РДСК), а также наличие неполных антител при помощи антиглобулиновой пробы Кумбса. Содержание полных и неполных антител в РА параллельно определяли как в нативной сыворотке, так и в сыворотке, обработанной солянокислым цистеином.

Полученные данные показывают, что на 7-й день после иммунизации в сыворотке крови всех животных появлялись агглютинины в довольно высоком титре (1:320—1:1230), в то время как неполные антитела в пробе Кумбса обнаруживались в низких титрах и то у отдельных животных. К 14-ым суткам после иммунизации средний титр агглютининов у подопытных групп животных заметно снижался, тогда как реакция Кумбса была положительной у всех животных в титрах 1:116—1:1333. Следует отметить, что титры неполных антител в этот срок превышали титры агглютининов лишь на 2—3 разведения. К 4 месяцам показатели РА в сыворотке крови подопытных животных значительно снизились, а у ряда животных были даже отрицательными, в то время как титры неполных антител находились на достаточно высоком уровне (1:76—1:355).

Титры неполных антител, начиная с 14-го дня после начала иммунизации, в различные сроки превышали титры агглютининов в 2—10 раз. Этот разрыв нарастал постепенно, начиная с первых сроков исследования, достигая максимума к 21—45-му дню. Характерно, что у отдельных животных неполные антитела в довольно высоких титрах выявлялись и при отсутствии у них агглютининов.

Применение цистеиновой пробы в первые сроки исследования (7—14-й дни) приводило к снижению серологической активности сывороток независимо от величины исходного титра агглютининов. Следовательно, антитела, выявленные в указанные сроки, за отдельным исключением относились к цистеинчувствительным антителам или макроглобулинам (19S). Последующие сроки (21—30-й дни) характеризовались выявлением антител порядка цистеинрезистентных или микроглобулинов (7S). Антитела, выявленные в более поздние сроки иммуногенеза (45—120-й дни), относились к обоим классам иммуноглобулинов (IgM 19S, IgG 7S).

Применение цистеиновой пробы при выявлении неполных антител в пробе Кумбса показало, что уже в первые сроки исследования (7—14-й дни) и в течение последующих 1,5 месяцев, т. е. в разгар вакцинного процесса, антитела представлялись в основном как цистеинрезистентные.

ции (рис. 1, А). Аналогичная картина отмечена и в динамике образования неполных антител, определяемых в пробе Кумбса, при этом подавление неомицином антителообразования происходило во все сроки исследования и было выражено значительно сильнее.

При постановке цистеиновой пробы в сыворотках подопытных и контрольных групп животных в титрах агглютининов не удалось выявить значительной разницы. В титрах же неполных антител в сравниваемых группах ранее выявленная разница сохранялась и после обработки сывороток цистеином (рис. 1, В). Из рисунка также видно, что цистеиновая обработка сывороток приводила к четкой дифференциации полных антител от неполных.

При введении обеих доз неомицина в организм животных спустя 7 дней после введения вакцины угнетающего влияния препарата на антителогенез не наблюдалось.

Комплементсвязывающие антитела в сыворотке крови были определены на 7-е сутки после иммунизации у отдельных животных в титрах, не превышающих 1:20. В дальнейшем они были выявлены у всех животных в титрах 1:25—1:100. В последующие сроки исследования происходило постепенное исчезновение их из периферической крови. При исследовании сывороток подопытных животных через 4 месяца после иммунизации по РДСК из 30 положительно реагировали лишь 9 в разведении 1:25.

Анализ полученных данных показал, что неомицин в дозе 10 и 20 тыс. ед./кг в сутки независимо от вариантов сочетания с иммунизацией овец на продукцию комплементсвязывающих антител не оказал существенного влияния.

Изучение отдельных фракций, полученных гель-фильтрацией, показало, что в начальный период вакцинного процесса (7—21-й дни) агглютинины выявлялись в первом пике и относились к макроглобулинам с максимальным титром 1:1535. Через 4 месяца уровень агглютининов в этой фракции снизился до пределов разведения 1:10. С 21-го дня после начала иммунизации отмечалось появление агглютининов и во втором пике, относящихся к микроглобулинам с показателем титра 1:12—1:192. К 45-му дню наблюдения отмечалось дальнейшее увеличение содержания агглютининов в фракции 7S с показателем титра 1:192—1:384, в то время как в фракции 19S происходило заметное снижение титра. К исходу опыта содержание агглютининов в фракции 7S снизилось до разведения 1:6.

Цистеиновая обработка фракции сывороток показала, что антитела (агглютинины), выявленные в первом пике на 7-й день и во втором—на 21-й день после иммунизации, относились к макроглобулинам.

Результаты исследования 120-го дня после иммунизации показали, что выявленные агглютинины относились к обоим классам иммуноглобулинов (IgM, 19S и IgG, 7S).

Наши наблюдения показали, что неполные антитела в пробе Кумбса как в необработанной, так и обработанной цистеином фракциях на

протяжении всего опыта были связаны с фракцией 7S, при этом они были выявлены еще в ранние сроки иммуногенеза. В дальнейшем имело место постепенное нарастание их титра. С 45-го дня исследования и до конца титр неполных антител остался высоким (1:48—1:384). Следовательно, иммунизация овец противобруцеллезной вакциной из штамма № 19 приводила к накоплению в крови неполных антител, принадлежащих к микроглобулинам, о чем свидетельствует и цистеиновая обработка тех же фракций.

Во фракции, полученной в третьем шпике, антитела выявлены не были.

Выводы

1. Живая противобруцеллезная вакцина вызывала у овец образование полных антител с различными свойствами, при этом вначале вырабатывались преимущественно антитела цистеинчувствительного типа (19S). Антитела, выявленные несколько позже, относились к цистеинрезистентным (7S), а в более поздние сроки вакцинного процесса относились к обоим классам иммуноглобулинов (IgM, 19S и IgG, 7S).

2. Неполные антитела, выявленные в сыворотке крови иммунизированных животных, являлись цистеинрезистентными (7S) и превышали уровень агглютининов до 10 раз. У животных они выявлялись в высоких титрах даже в случаях, когда РА была отрицательной.

3. В результате гель-фильтрации сывороток получены 3 фракции, из которых первые две серологически были активными и содержали: первая—макроглобулины и вторая—микроглобулины, третья фракция серологически была неактивной и содержала, по всей вероятности, альбумины.

4. Неомицин в дозах 10 и 20 тыс. ед./кг в сутки, введенный овцам в течение 7 дней одновременно с иммунизацией противобруцеллезной вакциной из штамма № 19, на выработку полных и неполных антител оказывал угнетающее влияние, чего не наблюдалось при позднем (через 7 дней после иммунизации) применении препарата.

Ереванский зооветеринарный институт

Поступила 12/XII 1976 г.

Ա. Ա. ՆԱՎԱՍԱՐԴՅԱՆ, Գ. Ա. ՇԱԿԱՐՅԱՆ, Գ. Վ. ՂՈՉԻԿՅԱՆ

ՀԵՏՎԱԿՑԻԱՆԱՅԻՆ ՀԱՎԱՄԱՐՄԻՆԵՆԵՐԻ ԲՆՈՒՅԹԸ
ՆԵՐՄԻՑԻՆ ՆԵՐԱՐԿԵԼԻՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Կենդանիներին հակաբրուցելիության կենդանի վակցինա ներարկելիս գոյանում են տարբեր հատկություններով օժտված ամբողջական հակամարմիններ: Ընդ որում իմունոգենիզմի վաղ ժամանակաշրջանում արտադրվում են

մակրոգլոբուլինների տիպին պատկանող հակամարմիններ (IgM, 19S): Ավելի ուշ ժամանակաշրջանում արտադրվում են ինչպես մակրո-, այնպես էլ միկրոգլոբուլինային հակամարմիններ (IgM, 19S և IgG, 7S): Արյան շիճուկում հայտնաբերվող կիսահակամարմինները պատկանում են միկրոգլոբուլինների շարքին (IgG, 7S): Նրանց մակարդակը 10 անգամ գերազանցում է ագլյուտինների մակարդակին:

Հետաքրքիր է նշել այն, որ կենդանիների արյան շիճուկում նրանք հայտնաբերվում են անգամ այն դեպքում, երբ ագլյուտինացիայի ռեակցիան բացասական է: Հակաբյուցեկոզային վակցինայի հետ միաժամանակ նեոմիցինի 10 և 20 հազար միավոր/կգ դոզաները կենդանիներին ներարկելիս ընկճում է հակամարմինների արտադրման պրոցեսը: Այն չի նկատվում, երբ նեոմիցինի հիշյալ դոզաները ներարկվում են վակցինացիայից 7 օր հետո: