

ВИВЧЕННЯ АНТИГЕННОЇ СТРУКТУРИ ШТАМІВ БАКТЕРОЇДІВ ФРАГІЛІС

Дяченко В.Ф., Марющенко А.М., Ягнюк Ю.А., Бакуменко А.В.

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України, м.Харків

Серед аспорогенних анаеробних збудників різних захворювань бактероїди займають провідне місце завдяки своїй поширеності та етіологічній значимості. Їх виявлення звичайними бактеріологічними методами досить ускладнене [1, 3]. Тому актуальними є дослідження по вивченню антигенної структури бактероїдів з метою розробки нових методів ідентифікації.

Довгий час вважалось, що в клітинній оболонці бактероїдів знаходяться лише штамоспецифічні антигени, тому реакція аглютинації та інші імунологічні реакції непридатні для ідентифікації та класифікації бактероїдів.

В 90-х роках минулого сторіччя британські вчені вперше виявили в клітинній оболонці бактероїдів полісахаридні компоненти, серед яких були як штамоспецифічні так і спільні видові антигени. Проведення подальшої очистки цих антигенних сполук дозволило отримати специфічну сироватку, ефективну для виявлення антигенів бактероїдів в клінічному матеріалі імуноферментним методом та методом імуофлюоресцентної мікроскопії.

Нами проведено вивчення антигенної структури штамів бактероїдів фрагіліс: *V.fragilis* (№ 13/83), *V.fragilis* (№323), та сьоми клінічних штамів.

Мікробну масу *V.fragilis* отримували вирощуванням на твердому живильному середовищі (кров'яний агар, кров'яний тіогликолевий агар) протягом 72 годин згідно з методичними рекомендаціями [2]. Культури змивали фізіологічним розчином, центрифугували 20 хвилин при 8 000 об/хв.. Мікробну масу висушували ацетоном. Суху мікробну масу дезинтегрували в агатовій ступці.

Полісахаридні антигенні комплекси (ПАК) з висушеної мікробної маси виділяли методом водно-фенольної екстракції [4] з подальшою очисткою методом гель-хроматографії на колонках з сефадексом С-75 [5].

Очищений антигенний полісахаридний комплекс був використаний для отримання специфічної сироватки шляхом 2 – 3-разової імунізації кролів. Ефективність імунізації вивчалась в реакції зв'язування комплекменту. Середній титр антитіл до ПАК в імунних сироватках складав 1:320.

Отримана діагностична сироватка була використана в реакції гель-преципітації з антигенами різних штамів бактероїдів. Результати проведеного дослідження схематично відображені на рис.1.

Результати реакції преципітації в гелі засвідчили, що методом водно-фенольної екстракції нами були отримані складні антигенні комплекси з оболонок вивчаємих штамів бактероїдів (всі вони давали по 2 – 3 лінії преципітації зі специфічною сироваткою). З'єднання деяких ліній преципітації може свідчити про наявність спільного полісахаридного антигена в досліджуваних клінічних та тест-штамах бактероїдів (спільна лінія преципітації була виявлена в антигенах з 8 вивчених штамів, що складало 89 % від загальної кількості перевірених штамів бактероїдів фрагіліс).

В подальшому нами були поставлені реакції перехресної аглютинації різних штамів бактероїдів фрагіліс з сироваткою кролів, імунізованих спільним полісахаридним антигеном. Реакція з культурами усіх штамів бактероїдів була позитивною в титрах від 1:80 до 1:320. Специфічність діагностичної сироватки була підтверджена негативним контролем з *E.coli* (№25922).

Таким чином, проведені дослідження показали, що методом водно-фенольної екстракції з подальшою (гель-хроматографічною) очисткою з клітинної оболонки

бактероїдів фрагіліс можна виділити складні антигенні комплекси, в тому числі і спільний видовий антиген.

Специфічна сироватка, отримана до спільного видового полісахаридного бактероїдного антигена може бути використана для імунологічного виявлення бактероїдів в клінічному матеріалі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Воробьев А.А., Миронов А.Ю., Пашков Е.П. Современные методы лабораторной диагностики инфекций, вызванных неспорообразующими анаэробными бактериями // Клиническая диагностика. – 1996. - № 1. – С. 14 – 16.
2. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними анаеробними мікроорганізмами: методичні рекомендації. – Харків, 2000.
3. Резван С.П., Сидоренко С.В., Буданов С.В. Сравнительная активность in vitro ампициллина, цефалоспоринов, их комбинаций с сульбактамом и других антибиотиков в отношении анаэробных микроорганизмов // Антибиотики и химиотерапия. – 1996. – Т.40, № 4. – С. 25 – 29.
4. Patrick S., Stawart L., Damani N and al. Immunological detection of *Bacteroides fragilis* in clinical samples // Med. Microbiol. – 1995. – Vol. 43. – P. 99 – 109.
5. Roxton I.R., Brown R. Immunochemistry of the surface carbohydrate antigens of *Bacteroides fragilis* and definition of a common antigen // J. Gen.Microbiol. – 1986, Sept; 132: 2475 – 81.

УДК 579:844.1-579.845:616-078

ВИВЧЕННЯ АНТИГЕННОЇ СТРУКТУРИ ШТАМІВ БАКТЕРОЇДІВ ФРАГІЛІС

Дяченко В.Ф., Марющенко А.М., Ягнюк Ю.А., Бакуменко А.В

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України

Було вивчено спільний полісахаридний антиген штамів бактероїдів фрагіліс. Для вивчення використані штами: *B.fragilis* (№ 13/83), *B.fragilis* (№323) та сім клінічних штамів, бактероїдів фрагіліс.

Полісахаридний антиген екстрагували водно-фенольним методом. До виділеного антигена була отримана специфічна антисироватка. Подальше вивчення показало присутність спільного полісахаридного антигена в більшості вивчених штамів бактероїдів фрагіліс.

УДК 579:844.1-579.845:616-078

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОЙ СТРУКТУРЫ ШТАММОВ БАКТЕРОИДОВ ФРАГИЛИС

Дьяченко В.Ф., Марющенко А.М., Ягнюк Ю.А., Бакуменко А.В.

Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова АМН Украины

Был изучен общий полисахаридный антиген штаммов бактероидов фрагилис. Для изучения использованы штаммы: *B.fragilis* (№ 13/83), *B.fragilis* (№323) и семь клинических штаммов, бактероидов фрагилис.

Полисахаридный антиген экстрагировали водно-фенольным методом. К выделенному антигену была получена специфическая антисыворотка. Дальнейшее изучение показало наличие общего полисахаридного антигена в большинстве изученных штаммов бактероидов фрагилис.

УДК 579:844.1-579.845:616-078

THE STUDY OF THE ANTIGENICAL STRUCTURE OF BACTEROIDES FRAGILIS

Diachenko V.F., Mariushenko A.M., Yahniuk Yu.A., Bacumenko A.V.

Mechnikov Institute of microbiological and immunological

The common polysaccharide antigen of *Bacteroides fragilis* strains was investigated. The strains used in this study were: *B.fragilis* (№ 13/83), *B.fragilis* (№323) and recent clinical isolates.

The polysaccharide antigen extracted by aqueous phenol methods. A specific antiserum against *Bacteroides fragilis* strains polysaccharide antigen was prepared.

The study indicated that in most strains of *Bacteroides fragilis* the common polysaccharide antigen was present.

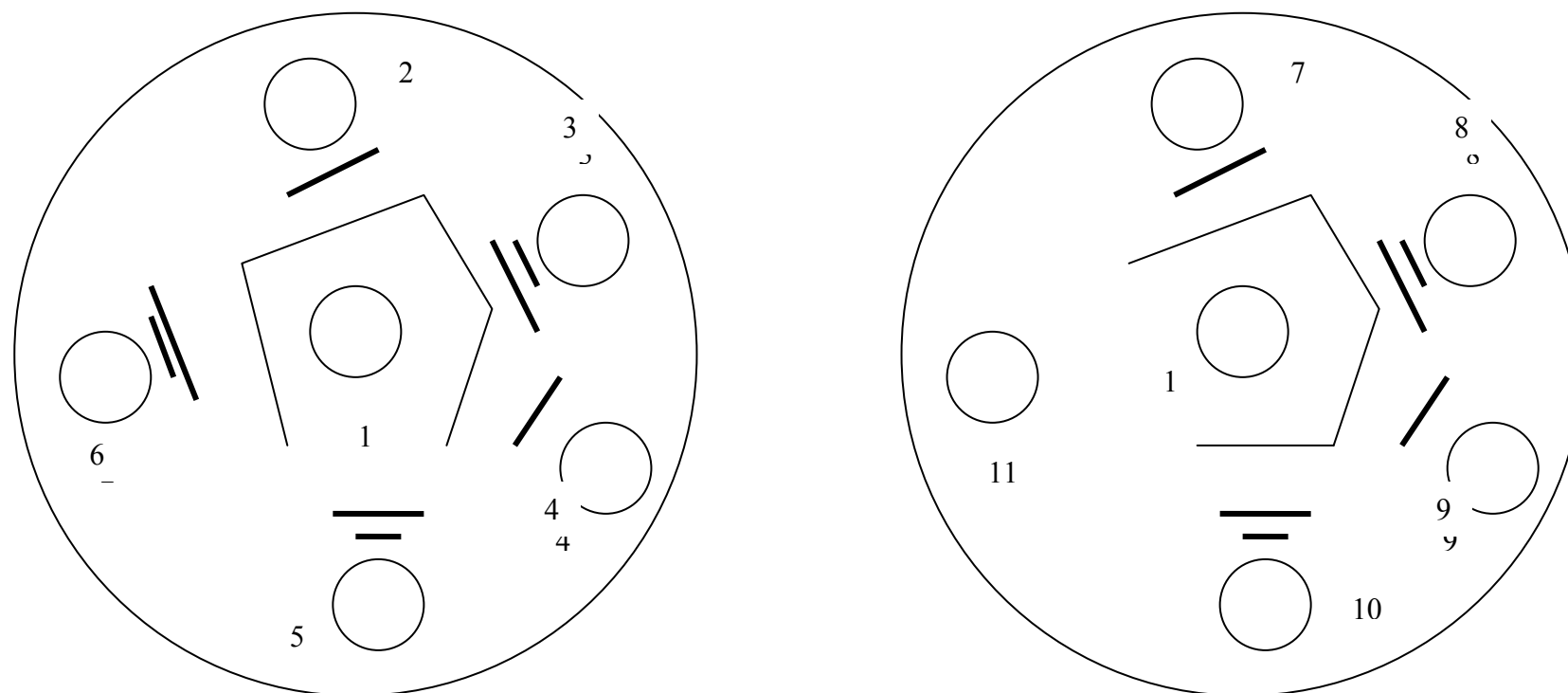


Рис. 1. Реакція геліпреципітації з полісахаридними антигенами різних штамів бактероїдів фрагіліс

1. Сироватка отримана при імунізації кролів ПАК *V.fragilis* N 13/83; 2. ПАК, отриманий з штаму *V.fragilis* № 13/83;
3. ПАК, отриманий з штаму *V.fragilis* № 323; 4. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 1;
5. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 2; 6. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 2;
7. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 4; 8. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 5;
9. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 6; 10. ПАК, отриманий з клінічного штаму *V.fragilis* № 7;
11. ПАК, отриманий з штаму *E.coli* № 25922