



СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТЕСТ-АЛЛЕРГЕНОВ ИЗ МИКРООРГАНИЗМОВ-ПРОДУЦЕНТОВ

**Республиканское унитарное предприятие
«Научно-практический центр гигиены»
(Государственное предприятие «НПЦГ»)
Министерства здравоохранения Республики Беларусь**

**Шевляков Виталий Васильевич,
главный научный сотрудник лаборатории промышленной
токсикологии, д-р мед. наук, профессор
раб. телефон: +375 17 379 13 96,
моб. телефон: +375 29 180 50 26**

«Способ получения бактериального тест-аллергена из микроорганизмов-продуцентов»

Способ позволяет получить в лабораторных условиях бактериальный тест-аллерген из культуры промышленного штамма микроорганизма-продуцента, заключающийся в том, что

- суспензию микроорганизма-продуцента инактивируют в течение 30 мин с одновременной дезинтеграцией ультразвуком мощностью 75-100 Вт и частотой 18-22 кГц,
- инаktivированную бактериальную культуру вносят в пробирки в количестве 1 см³ и добавляют в каждую пробирку по 6 см³ 1 % водного раствора КОН,
- экстрагируют при температуре 18-24 °С в течение 24 ч при постоянном перемешивании,
- центрифугируют при температуре 5 °С в течение 1 ч со скоростью 10 000 об/мин,
- полученный экстракт переносят в другие пробирки и добавляют к нему 50 % водный раствор уксусной кислоты из расчета 0,2 см³ на 1 см³ экстракта,
- перемешивают и выдерживают при температуре 4 °С в течение 2 ч,
- центрифугируют со скоростью 6 000 об/мин в течение 30 мин,
- после чего супернатант удаляют,
- к полученному осадку в каждую пробирку добавляют по 5 см³ стерильного физиологического раствора, при необходимости доводят рН до 7,2-7,4 и стандартизируют тест-аллерген по белку.

Основные этапы



Инактивация

- 30 минут
- одновременная дезинтеграция ультразвуком



Экстракция

- 1% водный раствор КОН
- при температуре 18-24 °C
- в течение 24 ч



Получение белкового преципитата

- Центрифугирование
- 50% водный раствор уксусной

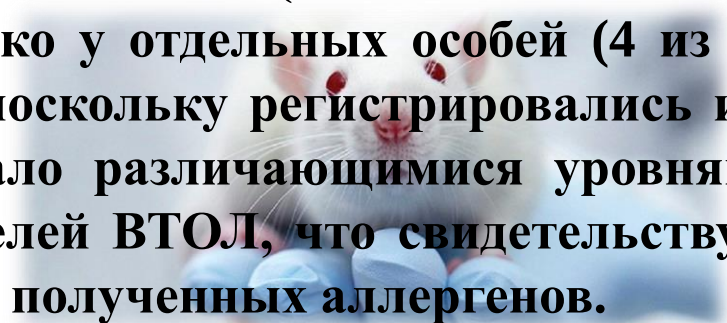


Растворение преципитата и стандартизация тест-аллергена по белку

ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ И АНТИГЕННОЙ ЧИСТОТЫ ТЕСТ-АЛЛЕРГЕНОВ

на примере тест-аллергенов, полученных из промышленных штаммов
Bacillus subtilis 494 (B.s.) и Pseudomonas fluorescens S 32 (Ps.f.),
входящих в состав микробных препаратов Бактоген и Стимул

На модели воспроизведения сенсибилизации белых мышей путем внутрикожного введения в основание хвоста полученных бактериальных аллергенов *B.s.* и *Ps.f.* в дозе по 100 мкг по белку в смеси с полным адъювантом Фрейнда и выявления гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) внутрикожным тестом опухания лапы (ВТОЛ) при введении на 6- сутки в коллатеральные лапы разрешающей дозы каждого аллергена установлена индукция выраженной ГЗТ у всех животных обеих опытных групп. При перекрестном тестировании тест-аллергенами выявлены слабоположительные (не более 1 балла) провокационные кожные реакции только у отдельных особей (4 из 8), имеющих неспецифический характер, поскольку регистрировались и у 2-3 из 8 контрольных животных с мало различающимися уровнями абсолютного и относительного показателей ВТОЛ, что свидетельствует об антигенной обособленности и чистоте полученных аллергенов.





Использование способа позволяет получить в лабораторных условиях из культур промышленных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактериальных микроорганизмов растворимые тест-аллергены, обладающие достаточно высокой специфичностью (до 94 %), антигенной обособленностью и антигенной чистотой, которые могут применяться в лабораторной аллергодиагностике для подтверждения профессиональной аллергопатологии микробной этиологии у работников биотехнологической отрасли промышленности.

