

окиси натрия, хотя иммунологическая активность полученных препаратов была практически одинакова.

УДК

ОСОБЕННОСТИ ПОДГОТОВКИ ХЛАМИДИЙНОГО АНТИГЕНА ПРИ ПОСТАНОВКЕ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

Лысенко А.П., Трубецкая Е.В.
БелНИИЭВ им. С.Н.Вышелесского, г. Минск

Хламидиоз крупного рогатого скота в настоящее время приобрел особую актуальность и его изучению придается большое значение. Это обусловлено тем, что данная инфекция имеет широкое распространение в различных странах мира. Данное заболевание наносит не только значительный ущерб животноводству, но может быть источником заболевания человека.

Хламидиоз широко распространен в природе. Отсутствие строгой видоспецифичности хламидий определяет многочисленные источники и пути распространения этой инфекции. Хламидии поражают практически все органы и системы организма, вызывая различные по патогенезу и клиническому проявлению заболевания.

У крупного рогатого скота хламидиоз проявляется с различными клиническими признаками - в виде энтеритов, маститов, пневмоний, артритов, эндометритов и т.д.

Проводимые ветеринарными лабораториями диагностические исследования на хламидиоз сельскохозяйственных животных показывают его широкое распространение в животноводческих хозяйствах Беларуси.

В настоящее время диагностическими ветеринарными лабораториями для выявления антител к возбудителю хламидиоза используется реакция связывания комплемента. Но основным недостатком данной реакции является ее низкая чувствительность, длительность постановки и громоздкость. Кроме того, в соответствии с "Инструкцией по диагностике хламидиоза", только по серологическому исследованию диагноз поставить невозможно. Для его постановки необходимо выделение возбудителя хламидиоза или обнаружение хламидиозного антигена в пораженных органах и тканях.

Из имеющихся в настоящее время методов диагностики иммуноферментный анализ является наиболее высокочувствительным, специфичным и дешевым методом.

Целью настоящего исследования является отработка очистки хламидийного антигена для конструирования тест-системы при постановке иммуноферментного анализа для выявления антител в сыворотках крови, носовых секретах, молозиве и молоке.

При изготовлении тест-системы для постановки иммуноферментного анализа основным компонентом является высокочищенный хламидийный антиген, который иммобилизуется на твердой фазе (полистироловых панелях). Для очистки антигена использовался инактивированная культуральная жидкость, содержащая возбудитель хламидиоза в высоких титрах (не менее $8 \lg$ ЭИД 50/мл). Очистку антигена проводили методом жидкостной хроматографии на ультрагеле А-2. В результате проведенного фракционирования было получено 24 фракции, из которых только 20-я, 21-я и 22-я обладали специфичностью при постановке ИФА с положительной и отрицательной сыворотками.

При отработке параметров иммобилизации полученных фракций на твердую фазу наиболее оптимальным было разведение антигена 1:200-1:400 - при разведении очищенных фракций в 200-400 раз активность и специфичность ИФА повышалась. Аналогичные данные получены и при разведении тест-сывороток до 1:100-1:200.

Полученные очищенные фракции более активны при постановке иммуноферментного анализа, чем целый неочищенный антиген. Это выражается в превышении оптической плотности с позитивной сывороткой по сравнению с негативной в 2 и более раза, тогда как цельный антиген с этими же сыворотками давал превышение в 1,2-1,4 раза.

Анализ метода очистки хламидиозного антигена показал необходимость предварительной его очистки с использованием геля, разделяющего частицы антигена по молекулярным массам, выделяя тем самым наиболее активные фракции, отделяя компоненты питательной Среды и балластные белки с большей и меньшей молекулярной массой.

После отработки методов очистки и параметров постановки иммуноферментного анализа проведено диагностическое исследование сывороток крови от коров и телят из хозяйств, в которых отмечались случаи заболевания с характерными клиническими признаками.

В результате проведенных исследований установлено, что антитела к хламидиям имеются у 75% обследованных взрослых коров, 80% нетелей. Однако у новорожденных телят противохламидиозных антител не обнаружено. Полученные данные свидетельствуют о циркуляции хламидий в стадах крупного рогатого скота, что в дальнейшем приводит к заражению молодняка.

УДК

АНАЛИЗ ИНФИЦИРОВАННОСТИ ВИРУСАМИ ИРТ И ВД КОРОВ С ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Красочко П.А., Красочко И.А., Иванова И.П., Кот Н.И.

БелНИИЭВ им. С.Н.Вышелеского, г. Минск