

УДК 616:616.98-578.828.11-07

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Снарските А., Ружаускас М.

Институт ветеринарии Литовской ветеринарной академии, Кайшядорис, Литовская Республика

Одной из важнейших мер профилактики лейкоза крупного рогатого скота (ЛКРС) является ранняя и точная диагностика. Гематологические исследования (определение лимфоцитоза) недостаточно эффективные и устаревшие. Более точными являются методы выявления специфических антител к вирусу ЛКРС. Около 93-100% больных лейкозом животных продуцируют антитела к гликопротеидному gp51 (поверхностному) и полипептидному (внутреннему) p24 антигенам ВЛКРС, они являются самыми важными в диагностике ЛКРС. Долгое время для диагностики ЛКРС применявшаяся реакция иммунодиффузии (РИД) оказалась недостаточно чувствительной. Специфические антитела к моноклональному антигену p24 методом иммуноферментного анализа (ИФА) можно определить через 26 суток после инфицирования животного [4]. Главным преимуществом ИФА является возможность выявить антитела к антигенам gp51 и p24 в сыворотке крови и в молоке, хотя концентрация антител в нем намного ниже. Альтернативным методом иммунологическим исследованиям предложен метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Результаты исследования подтверждают, что в настоящее время метод ПЦР является самым чувствительным для ранней диагностики ЛКРС. Преимуществом ПЦР является возможность отобрать молодняк, инфицированный вирусом ЛКРС, от молодняка, имеющего колостральный иммунитет [3]. ПЦР также важен в диагностике смешанных инфекций. Поэтому особенно важно установить эффективность и целесообразность применения метода ПЦР в диагностике лейкоза КРС.

Материалы и методы. Методом РИД исследовали сыворотку крови 150 коров и отобрали 50 проб, в которых выявили специфические антитела к ВЛКРС. Эти пробы исследовали методом ИФА с моноклональными антителами (МАК) p24, определили титр антител и оценили совпадение результатов. Для выявления специфических антител методом ИФА применяли диагностический набор фирмы TEST-Line EBLV Ab ELISA. Далее методами РИД и ИФА с МАК p24 исследовали 50 проб молока и отобрали 15 проб, в которых определили антитела к внутреннему p24 белку ВЛКРС. Одновременно методом ПЦР исследовали лимфоциты периферической крови всех отобранных 15 коров. Интеграцию провируса ВЛКРС в геном клетки установили методом ПЦР. Прямое выделение ДНК из клеток крови производили по методике, предложенной S.Gustincich et al. (1991).

Результаты и обсуждение. Результаты исследования 50 проб сыворотки крови показали, что средний титр антител методом РИД был $2,25 \pm 0,50 \log_2$, а методом ИФА с МАК p24 $-6,65 \pm 0,58 \log_2$ ($p < 0,001$). Антитела были определены в разведении 1:1-1:16 (методом РИД) и 1:64-1:1024 (методом ИФА) и совпали на 94%. Антитела к ВЛКРС в молоке методом РИД выявить не удалось, а методом ИФА с МАК p24 они были обнаружены во всех 15 пробах, в разведениях от 1:128 до 1:512, средний титр достигал $5,56 \pm 0,50 \log_2$. Сравнительные исследования чувствительности методов серологической диагностики подтвердили, что метод ИФА с МАК p24 намного лучше, чем РИД [7] и может применяться исследуя пробы молока [2]. Иммунологическая реакция животных, инфицированных вирусом диареи, к ВЛКРС значительно уменьшается [6]. Для точной диагностики лейкоза КРС следует применять прямые методы, одним из которых является ПЦР. По данным наших исследований в лимфоцитах периферической крови всех 15 коров, продуцирующих антитела к ВЛКРС (они были выявлены в молоке и в сыворотке крови), была обнаружена провирусная ДНК. Таким образом результаты ИФА и ПЦР полностью совпали [3, 5].

Литература

1. Gustincich S., Manfioletti G., Del Sal G. et al. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood // *Bio techniques*. 1991. N. 11. - P. 298-301.
2. Klintevall K.A., Naslund K., Hajdu L. et al. Evaluation of an indirect ELISA for detection of antibodies to bovine leukemia virus in milk and serum // *J.Virol. Meth.* 1991. - N. 33. - P. 319-333.
3. Klintevall K.A., Ballagni-Pordany A., Nusland K. et al. Bovine leukemia virus: rapid detection of proviral DNA by nested PCR in blood and organs experimentally infected calves // *Vet.Microbiol.* 1994. - N. 42. P. - 191-204.
4. Molloy J.B., Walker P.J., Boldock F.C. et al. An enzyme linked immunosorbent assay for detection of bovine leukemia virus p24 antibody in cattle // *J.Virolog. Meth.* 1990. - N. 28. P. - 47-58.
5. Naif H.M., Daniel R.C.W., Coultage W.G. Early detection of bovine leukemia virus by using enzyme linked assay for polymerase chain reaction - amplified proviral DNA in experimentally infected cattle // *J.Clin. Microbiol.* 1992. - N. 30. P. - 675-679.

6. Roberts D., Lucas M., Swallow C. Comparison of the agar-gel immunodiffusion test and ELISA in the detection of bovine leukosis virus in cattle persistently infected with bovine diarrhoea virus // *Vet. Immun. Immunopath.* 1989. - N. 22. P. - 275-281.

7. Van der Maaten M., Miller J. Bovine leukosis virus // *Virus infections in vertebrates.* 1990. - N. 3. P. - 419-429.

УДК 619:615.373

ВЛИЯНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ АЭРОИОНИЗАЦИИ НА ПРОДУЦЕНТОВ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Соколов Г.А., Медведев А.П., Даровских С.В.

УО Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины,
Республика Беларусь

Сыворотку против сальмонеллеза животных получают путем гипериммунизации волов сальмонеллезным фермолантигеном. Активность сыворотки зависит от физиологического состояния здоровья продуцентов, качества антигена, применяемой схемы гипериммунизации, кормления животных, условий их содержания и других факторов. В литературе имеется ряд сообщений о положительном влиянии искусственной аэроионизации на общее состояние здоровья сельскохозяйственных животных [1, 2, 4] и формирование у них напряженного иммунитета при вакцинации против инфекционных болезней [4, 5]. Поэтому цель нашей работы – изучение влияния искусственной аэроионизации на специфическую реактивность организма продуцентов сыворотки против сальмонеллеза животных.

Опытная работа выполнена в производственных условиях Витебской биофабрики. Для проведения опытов по принципу условных аналогов сформировали две группы волов по 10 голов в каждой. Первая группа животных служила в качестве опытной и подвергалась искусственной аэроионизации в дозе 250 -300 тыс./см³ отрицательных легких аэроионов продолжительностью 1,5 – 2 часа, трижды в сутки, в течение 3-х месяцев с подготовительным периодом в 10 дней. Аэроионизацию осуществляли с помощью электрического аэроионизатора антенного типа. Интенсивность аэроионизации контролировали счетчиком САГ – 2М. Вторая группа аэроионизации не подвергалась и служила контролем. Продуценты каждой группы были размещены в отдельных секциях одного типового помещения с одинаковым нормативным микроклиматом, одинаковым рационом кормления по потребности и содержания в соответствии с гигиеническими нормами.

О влиянии аэроионизации на специфическую реактивность продуцентов судили по агглютинирующей и превентивной активности получаемой от них сыворотки. Агглютинирующую активность сыворотки изучали в реакции агглютинации (РА), которую ставили пробирочным методом. Сыворотку разводили физиологическим раствором 1:25, 1:50, 1:100 и т.д. до титра. В качестве антигена использовали смыв сальмонелл (*Salmonella cholerae suis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortus ovis*) с мясопептонного агара, который разводили физраствором до концентрации 500 млн. м.т./см³. Реакцию ставили в объеме 1 см³.

Превентивную активность сыворотки определяли на белых мышах массой 18 – 20 г. Сыворотку вводили животным в дозах: 0,25; 0,5 и 0,75 см³, используя на дозу не менее 10 мышек и спустя 2 – 3 часа заражали их 2 ЛД₅₀ вирулентных штаммов сальмонелл (*S. cholerae suis* 373, *S. dublin* 370, *S. typhimurium* 371, *S. abortus ovis* 372). В качестве контрольных служили мышки, не получавшие сыворотку, но которых заражали одновременно с опытными. Наблюдение вели в течение 10 суток, отмечая павших и выживших.

В результате экспериментов установлено, что аэроионизация оказывает положительное влияние на иммунологическую реактивность продуцентов. Об этом свидетельствует повышение агглютинирующей и превентивной активности сыворотки, получаемой от продуцентов опытной группы. Так, через 20 дней после начала аэроионизации агглютинирующая активность сыворотки опытных волов составила в отношении *S. cholerae suis* 1 : 12800, *S. dublin* - 1: 6400, *S. typhimurium* – 1 : 12800, *S. abortus ovis* – 1: 6400, в то время как титр агглютининов сыворотки крови волов контрольной группы в отношении упомянутых сальмонелл не превышал значения 1 : 3200.

Превентивная активность сыворотки крови животных опытной группы для белых мышей также была выше, чем сыворотки контрольной группы. Выживаемость мышей, иммунизированных сывороткой от продуцентов экспериментальной группы, составила 95%, а мышей, получавших сыворотку от волов контрольной группы – 75%.