Ученые записки УО ВГАВМ. - Витебск, 2000. - Т. 36, ч. 1.

УДК – 619:616.98:579.841.94

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕАКЦИИ АГГЛЮТИНАЦИИ ПРИ БОРДЕТЕЛЛЕЗНОЙ ПНЕВМОНИИ СВИНЕЙ

ВЕРБИЦКИЙ А.А.
Витебская государственная академия ветеринарной медицины

Перевод свиноводства на промышленную основу выдвинул новые проблемы, связанные с сохранением животных. Своеобразные условия содержания, кормления и интенсивности использования свиней на промышленных комплексах отрицательно сказываются на физиологическом состоянии и естественной резистентности организма, что, в конечном итоге, способствует возникновению болезней, а также накладывает определенный отпечаток на их проявление, профилактику и борьбу с ними.

Особенно большую опасность для свиноводства представляют респираторные болезни. Одним из многочисленных этиологических факторов респираторной патологии является Bordetella bronchiseptika. Основное внимание до настоящего времени уделялось описанию обусловленного бордетеллой инфекционного атрофического ринита [3]. В последнее время появились многочисленные данные о роли бордетелл в заболевании свиней воспалениями легких [1,2,4,5].

Бордетеллез свиней по клиническому проявлению весьма сходен с многими пневмониями инфекционной природы. Поэтому диагностика болезни представляет определенные трудности, тем более что морфологический и бактериологический методы не всегда достоверны [1].

Из литературных данных известно, что наиболее оптимальным методом прижизненной диагностики бордетеллезной инфекции является реакция агглютинации. Исследователи B. Elias (1985), P. Schlas (1987) отмечали положительную реакцию агглютинации в неблагополучных хозяйствах в 60 – 90% случаев, а при бактериологическом исследовании содержимого носовой полости и внутренних органов после убоя этих животных возбудитель выделяли только в 12 – 17% случаев. Для использования этой реакции нам было необходимо приготовить бордетеллезный антиген и получить специфические гипериммунные сыворотки.

Антиген готовили следующим образом: микроорганизмы референтного штамма полученного из Польши, высевали на МПБ с добавлением 10% сыворотки крови лошади и выращивали при температуре 37^{0}С в течение 48 часов. Специфичность роста определяли по общепринятым методикам, путем высева на МПБ, МПА, среду Китта – Тарощци. Проводили микроскопию окрашенных мазков. После чего к растущей культуре добавляли 0,3% формалина, выдерживали до полной инактивации. Полученную бактериальную взвесь центрифугировали, ресуспензировали изотоническим раствором натрия хлорида с добавлением 0,3% формалина до 10 млрд. микробных тел в 1 мл по стандарту мутности.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

Контроль антигена на отсутствие самоагглютинации проводили на предметном стекле, нанося каплю антигена и смешивая ее с изотоническим раствором хлорида натрия. Полноту инактивации антигена определяли по отсутствию роста на питательных средах.

Для гипериммунизации использовали кроликов массой 3 - 3,5 килограмма предварительно проверив их на пастерелло - и бордетеллоносительство. С этой целью дважды, с суточным интервалом инстилировали 1 –2 капли 1% водного раствора бриллиантовой зелени. При отсутствии истечения слизистого экссудата из носа животных использовали в опыте.

Для приготовления антигенов, предназначенных для гипериммунизации кроликов микроорганизмы культивировали в течение двух суток на казеиново – угольном агаре. Выросшую культуру смывали изотоническим раствором натрия хлорида. Концентрацию антигена доводили до 10 млрд. микробных тел по стандарту мутности. Инактивацию осуществляли 0,3% формалина. Контроль на стерильность и стабильность проводили по общепринятым методикам.

Иммунизацию проводили по следующей схеме: кроликам трижды инъецировали антиген подкожно в дозах 0,5, 1,0 и 1,0 мл с интервалом между инъекциями в 5 суток. Затем через 10 дней антиген ввели дважды внутривенно 1,0 и 2,0 мл с тем же интервалом, что и при подкожных инъекциях. Длительность иммунизации составила 25 суток, на одного кролика, было израсходовано 5,5 мл антигена. Кровь брали спустя 7 дней после последней инъекции антигена. Полученную сыворотку консервировали 5% раствором фенола до конечной концентрации вещества в сыворотке 0,5%. Консервированную сыворотку стерилизовали через пластины марки "СФ", проверяли на стерильность и активность. Титр антител полученной сыворотки к гомологичному антигену составил 1:6400.

Бордетеллезный антиген и сыворотку использовали для исследования проб крови от свиней группы доращивания совхоза – комбината "Лучеса" Витебского района. Было исследовано 26 проб крови от поросят 2 – 4 месячного возраста. Сначала реакцию ставили пластинчатым методом. С этой целью на чистое обезжиренное предметное стекло наносили по одной капле антигена. К одной из них добавляли каплю испытуемой сыворотки, к другой в том же объеме специфическую сыворотку кролика, к третьей – нормальную (отрицательную) сыворотку, к четвертой – каплю изотонического раствора натрия хлорида. В трех пробах был получен положительный результат. Для установления титра антител мы поставили пробирочную реакцию агглютинации в объеме один миллилитр. Сыворотку разводили изотоническим раствором хлорида натрия, начиная с разведения 1:10 с двукратным шагом до разведения 1:640. К каждому разведению сыворотки добавляли антиген в соотношении 1:1. Пробирки встряхивали и помещали в термостат при температуре 37^{0}С на 6 часов, затем выдерживали при комнатной температуре 15 часов.

В качестве контроля реакции использовали:

1. антиген + изотонический раствор натрия хлорида,

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ

2. антиген + отрицательная сыворотка,
3. антиген + положительная сыворотка.

Оценку реакции осуществляли при боковом освещении, учитывая степень просветления жидкости и форму осадка по следующей схеме:

++++ - надосадочная жидкость прозрачная, на дне мелкозернистый осадок, расположенный по куполу пробирки в виде ажурного зонтика;

+++ - надосадочная жидкость прозрачная, на дне четко очерченный осадок в виде зонтика;

++ - незначительное просветление жидкости и наличие на дне пробирки небольшого осадка в виде зонтика;

+ - жидкость мутная, на дне пробирки осадок в виде размытой пуговки;

- - жидкость мутная, на дне пробирки осадок в виде пуговки.

Две пробы сыворотки в разведении 1:40 реагировали на три креста, третья в разведении 1:80, что свидетельствует о положительной реакции, так как, титр 1:40 и выше считается диагностическим.

Таким образом, результаты исследований дают основание сделать вывод, что реакцию агглютинации можно успешно использовать для диагностики пневмонии свиней бордетеллезной этиологии.

Литература

1. Кожевников С.В. и др. Бордетеллез свиней. - М., 1990
2. Миланко А.Я. Настенко В.Д. и др. Инфекционные пневмонии свиней – Киев. - Урожай – 1985. – С.23 – 28
3. Пашов Т.В. Инфекционный атрофический ринит свиней. – Колос. - М. – 1967
4. Ребенко Г.И. Автореферат диссертации кандидата вет. наук. – Харьков. – 1999
5. Elias B., Torok L. Epizootiologiche Untersuchungen uber die Rhinitis atrphicans und Pneumonie des Schweines. Zbl. Veter. Med. Reiche B., 1984. 31. 3. 12: 180 – 188.

РЕПОЗИТОРИЙ УО ВГАВМ