

УДК 619.616.988 74.636.2

РЕАКЦИЯ РАДИАЛЬНОГО ГЕМОЛИЗА В ДИАГНОСТИКЕ ХЛАМИДИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Фомченко И.В.

Витебская государственная академия ветеринарной медицины

Ветеринарная наука и практика добились значительных успехов в борьбе с инфекционными болезнями животных, но, тем не менее, в этой области имеется ряд нерешенных вопросов, связанных, прежде всего, с появлением новых или малоизученных болезней. В условиях интенсификации животноводства и перевода его на промышленную основу в хозяйствах Республики Беларусь, установлено значительное распространение хламидиоза у крупного рогатого скота. Это инфекционное заболевание наносит хозяйствам ощутимый экономический ущерб, который выражается в снижении или потере воспроизводительной функции маток из-за абортов, массовых гинекологических заболеваний, падеже и снижении прироста живой массы молодняка. В связи с этим возникла необходимость применение новых диагностических исследований для диагностики данного заболевания.

Цель нашей работы состояла в использовании реакции радиального гемолиза (РРГ) для диагностики хламидиоза крупного рогатого скота.

Для приготовления диагностикума использовали сенсibilизированные эритроциты барана. Антиген возбудителя хламидиоза, был получен на 6-7 дневных развивающихся куриных эмбрионах, которых заражали в желточный мешок и специфическая гибель эмбрионов наступала на 8-11 сутки. Для этого проводили выделение чистой культуры от 6 до 10 пассажей.

Отмытые эритроциты обрабатывали раствором танина в течении 10 минут при 20-22°C, а затем ресуспендировали в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия с рН 7,2-7,4 и смешивали с хламидиозным антигеном из расчета 1 объем 10%-ой взвеси эритроцитов с 1/4 части антигена. Смесь инкубировали 15-20 минут при температуре 37°C, а затем отмывали центрифугированием в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия с рН 7,2-7,4 и в этом же растворе ресуспендировали эритроциты до 10%-ой концентрации, к сенсibilизированным эритроцитам добавляли комплимент морской свинки из расчета 1 мл. 10%-ой взвеси эритроцитов и 0,25 мл. комплимента. Затем готовили 1,5% раствор агарозы на забуференном изотоническом растворе хлорида натрия с рН 7,2-7,4. К расплавленному и охлажденному до 42°C 1,5-ой агарозе в равном объеме добавляли сенсibilизированные эритроциты. Смесь тщательно перемешива-

ли и равномерно распределяли на стеклянной пластинке (9 - 12), также можно использовать чашки Петри, из расчета 1 мл. агарозы на 7-8 см². После застывания геля пробойником по шаблону вырезали лунки диаметром 2мм., располагающиеся рядами на расстоянии 12 - 15 мм. друг от друга. В опытные лунки вносили исследуемые сыворотки больных или переболевших животных, взятые в разведениях. Пластинки инкубировали в течение 16-20 часов во влажной камере при 37°C. Учет реакции проводили визуально, измерением диаметра зоны гемолиза, а также с помощью простой бинокулярной лупы - 6.

При положительной реакции радиального гемолиза (РРГ) диаметр зоны гемолиза 3мм. и более. При отсутствии гемолиза или величина зоны менее 3мм., то РРГ - отрицательная. За титр антител принимают наибольшее разведение сыворотки, при которой еще происходит образование зоны гемолиза диаметром не менее 3 мм.

Реакция радиального гемолиза сопровождается следующими контролями:

1. В лунку вносят забуференный изотонический раствор натрия хлорида - отрицательный контроль (зона гемолиза отсутствует).

2. В лунку вносят различные разведения гомологичной иммунной сыворотки - положительный контроль (зона гемолиза с четко ограниченными краями, диаметр зоны уменьшается при разведении сыворотки).

Таким образом, реакцию радиального гемолиза можно использовать для диагностики хламидиоза крупного рогатого скота в условиях практических лабораторий, так как она более проста и менее трудоемка по сравнению с используемой в лабораториях Республики Беларусь реакцией длительного связывания комплимента.

Литература

1. Митрофанов П.М. Основные итоги и перспективы научных исследований по хламидиозам сельскохозяйственных животных в Сибири // Научно-технический бюллетень./ ВАСХНИЛ. Сиб. отд-ние. - 1986. - Вып.24: Диагностика и меры борьбы с хламидиозом сельскохозяйственных животных. - С. 3-11

2. Науменков В.И. Реакция радиального гемолиза в диагностике вирусных пневмоэнтеритов крупного рогатого скота // Уч. записки ВГАВМ. т.33. Витебск. 1996. - С. 70-71