

УДК 619:616.98:578.835.2-07.

В.И. НАУМЕНКОВ

## РЕАКЦИЯ РАДИАЛЬНОГО ГЕМОЛИЗА В ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСНЫХ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В связи с широким распространением вирусных пневмоэнтеритов у крупного рогатого скота (Науменков В.И., Грунтов И.В., 1991; Науменков В.И., 1994) большое значение имеет совершенствование лабораторной диагностики вирусных пневмоэнтеритов.

Цель нашей работы состояла в использовании реакции радиального гемолита (RFI) для диагностики вирусных пневмоэнтеритов у крупного рогатого скота.

Для приготовления диагностикума использовали нативные или стабилизированные эритроциты барана, антигены вирусов парагриппа-3 (ПГ-3), инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи (БД), респираторно-синцитиальной (РС) и аденовирусной (АД) инфекции.

Отмытые эритроциты ресуспендировали в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия с pH 7,2-7,4 и смешивали с вирусными антигенами из расчета 1 объем 10%-ой взвеси эритроцитов с 1/4 частью антигена. Смесь инкубировали 15-20 минут при температуре 37°C, а затем отмывали центрифугированием в забуференном изотоническом растворе хлорида натрия (pH 7,2-7,4) и в этом же растворе ресуспендировали эритроциты до 10%-ой концентрации, к сенсibilизированным эритроцитам добавляли комплемент морской свинки из расчета 1 мл 10%-ой взвеси эритроцитов и 0,25 мл охлажденного комплемента. Затем готовили 1,5%-ый раствор агар (агарозы) на забуференном изотоническом растворе хлорида натрия (pH 7,2-7,4), необходимо использовать хорошо очищенный агар, не обладающий антикомплемментарными и гемотоксическими свойствами. К расплавленному и охлажденному до 42°C 1,5%-ому агару (агарозе) в равном объеме добавляли сенсibilизированные эритроциты. Смесь тщательно перемешивали и равномерно распределяли на стеклянной пластинке (9x12). После застывания геля пробойником по шаблону вырезали лунки диаметром 2 мм, располагающиеся рядами на расстоянии 12-15 мм. В опытные лунки вносили по 5 мл исследуемой сыворотки больных (переболевших) животных, взятых в разведениях. Пластинки инкубировали в течение 18-20 часов во влажной камере при 37°C. Учет реакции проводили визуально, измерением диаметра зоны гемолита,

а также с помощью простой или бинокулярной лупы - 6 или - 8.

При положительной РРТ диаметр зоны гемолиза 2 мм и более. При отсутствии гемолиза или величина зоны менее 2 мм, то РРТ - отрицательная. За титр антител принимают наибольшее разведение сыворотки, при которой еще происходит образование зоны гемолиза диаметром не менее 2 мм.

РРТ сопровождается необходимыми контролями: а) в лунку вносят забуференный изотонический раствор хлорида натрия - отрицательный контроль (зона гемолиза отсутствует); б) в лунку вносят различные разведения гомологичной иммунной сыворотки - положительный контроль (зона гемолиза четко просматривается, диаметр зоны уменьшается при разведении сыворотки).

После учета результатов пластинки можно обработать изотоническим раствором хлорида натрия с добавлением 5 %-го формалина, а затем их хранить во влажной камере в течение нескольких месяцев как учебные или демонстрационные препараты.

**З а к л ю ч е н и е.** Таким образом, РРТ можно рекомендовать для диагностики вирусных пневмоэнтеритов у крупного рогатого скота, в условиях практических лабораторий.

**Л и т е р а т у р а.** 1. Науменков В.И., Грунтов И.В. Изучение динамики эпизоотического процесса при вирусных пневмоэнтеритах телят. // Тез. докл. III Всесоюз. конф. по эпизоотологии. Новосибирск. 1991. - С. 283-284. 2. Науменков В.И. Вопросы этиологии и динамики эпизоотического процесса при вирусных пневмоэнтеритах телят. // Ветеринария № 2, 1994. - С. 23-24. 3. Науменков В.И. Вирусные пневмоэнтериты при ассоциированном течении // Уч. записки ВГАВМ. Т.31. Витебск. 1994. - С. 122-123. 4. Науменков В.И. Изучение эпизоотической ситуации по вирусным пневмоэнтеритам крупного рогатого скота по Витебской области. // Ученые записки ВГАВМ. Т. 32. Витебск, 1994. - С. 121.