

особенно после второй иммунизации, возрастало количество В-лимфоцитов и псевдоэозинофилов.

В сыворотке крови утят на 2-й день после первой иммунизации увеличивались в 2 раза титры специфических сальмонеллезных антител и в 1,5 раза иммуноглобулина М, на 3-й день после второй иммунизации значительно возрастало количество иммуноглобулинов (G + A).

В органах иммунной системы утят, вакцинированных против сальмонеллеза, под действием алюмокалиевых квасцов во все сроки иммунизации возрастала в В-зависимых зонах активность щелочной фосфатазы. Активность кислой фосфатазы заметно возрастала в тимусе, селезенке, слепкишечных мицдалинах. Одновременно в органах иммунитета утят, получавших иммуностимулятор, активизировались плазмоцитарная, микро- и макрофагальная реакции. При этом основную массу плазмоцитов, особенно после 2-й иммунизации, составляли зрелые формы.

Рекомендуем для стимуляции иммуноморфогенеза утят против сальмонеллеза использовать вакцину совместно с алюмокалиевыми квасцами в 10%-ной концентрации.

УДК 619:616.9-053.31-07

Ю.Г. ЗЕЛЮТКОВ, кандидат ветеринарных наук, доцент

И.З. СЕВРЮК, кандидат ветеринарных наук

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РИГА В ДИАГНОСТИКЕ РОТА- И КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ТЕЛЯТ

Исследования, проведенные нами в течение ряда лет, свидетельствуют о том, что среди этиологических факторов, вызывающих патологию желудочно-кишечного тракта, ведущую роль играют рота- и коронавирусы. При этом заболеваемость в ряде хозяйств Витебской области достигает 32—73%, а летальность варьирует от 3 до 49%. Как указывают факты, источником возбудителя инфекции являются больные, переболевшие телята и клинически здоровые коровы — вирусносители.

Ранняя и достоверная диагностика указанных инфекций имеет определяющее значение в эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Однако при рота- и коронавирусной инфекциях клинико-

эпизоотические данные и результаты патологоанатомических исследований позволяют лишь предположить причину заболевания и гибели животного. Окончательный диагноз устанавливают после выявления специфических антигенов в клиническом вируссодержащем материале. С этой целью в настоящее время используют такие тесты, как РГА, РТГА, ИФА, РИФ, РИД, иммуноэлектронная микроскопия и др. Указанные методы имеют как позитивные, так и негативные позиции, различную диагностическую информативность, что в конечном итоге в ряде случаев сдерживает их использование в производственных ветеринарных лабораториях.

В связи с этой целью наших исследований явилось применение реакций непрямой гемагглютинации (РНГА) на основе приготовленных нами эритроцитарных диагностикумов, предназначенных для индикации рота- и коронавирусных антигенов в исходном полевом вируссодержащем материале.

Сущность метода заключается в способности эритроцитов, на которых предварительно адсорбированы антитела, агглютинировать в присутствии гомологичных антигенов.

Работа проводилась в условиях лаборатории кафедры эпизоотологии, проблемной научно-исследовательской лаборатории ветеринарного института и хозяйств, стационарно неблагополучных по диарейным болезням телят.

В качестве исследуемого материала использовали пробы фекалий телят, отбор которых проводили на ранних стадиях заболевания. Постановку реакций осуществляли по общепринятой методике и сопровождали необходимыми контролями, обеспечивающими высокую специфичность и достоверность результатов.

На первом этапе осуществляли приготовление эритроцитарных диагностикумов, предназначенных для постановки РНГА для выявления рота- и коронавирусных антигенов.

Техника приготовления эритроцитарных диагностикумов для выявления рота- и коронавирусных антигенов в РНГА заключается в следующем: получение суспензии эритроцитов; их фиксация акролеином; танизация, позволяющая получить стабильную сорбцию необходимого белка на эритроцитах; сенсибилизация танизированных эритроцитов иммуноглобулинами; определение специфичности приготовленного диагностикума.

Приготовление суспензии эритроцитов осуществляли путем отбора крови клинически здорового барана в колбу со стеклянными бусами. После дефибрирования крови эритроциты 3-5 раз отмывали изотоническим (0,9%-ным) раствором натрия хлорида путем центрифугирования в течение 15-20 мин при 400 *g*.

В целях стабилизации эритроцитов проводили их обработку акролеином. Как известно, его действие несколько мягче, чем формальдегида, и обеспечивает стабильность и более высокую активность эритроцитов. Для этого равные объемы 10%-ной взвеси эритроцитов смешивали с 0,2%-ным раствором акролеина, приготовленного на фосфатном буферном растворе (ФБР) с pH 7,2. Полученную суспензию выдерживали в течение 30 мин при 37°C, тщательно перемешивая, с последующим освобождением от акролеина многократным центрифугированием в течение 5 мин при 600-800 *g* до полного исчезновения специфического запаха. Преимущество приготовленных таким образом эритроцитов заключается в том, что они заготавливаются впрок, могут длительное время сохраняться, не подвергаясь гемолизу.

В дальнейшем стабилизированные эритроциты в 10%-ной концентрации выдерживают при 2-4°C в ФБР с pH 7,2 в течение двух месяцев.

Для повышения сорбционной способности и осаждаемости эритроцитов проводили их танизацию путем смешивания равных частей 10%-ной суспензии отмытых эритроцитов и раствора танина на ФБР с pH 7,2 в разведении 1:30 000. Смесь тщательно перемешивали и выдерживали при 37°C в течение 15 мин, после чего эритроциты тщательно отмывали от танина - дважды в ФБР с pH 7,2 и трижды изотоническим раствором натрия хлорида с pH 7,2-7,4.

Наилучшие результаты по качеству эритроцитарных диагностикумов были получены при использовании эритроцитов в течение 24-48 ч после обработки танином.

В процессе приготовления диагностикумов в качестве растворителя и консерванта использовали 0,3%-ный фенолизированный изотонический раствор натрия хлорида с 1%-ной нормальной кроличьей или лошадиной сывороткой, предварительно инактивированной при 56°C в течение 30 мин и адсорбированной нормальными эритроцитами барана при 37°C в течение 30 мин.

Сенсибилизацию танализованных эритроцитов осуществляли гипериммунной сывороткой соответственно против рота- и коронавируса крупного рогатого скота (получены из ВИЭВ). Известно, что опреде-

ление оптимальной концентрации гемосенситина имеет определенное значение и существенно влияет на качество эритроцитарного диагностикума, так как избыточное количество иммуноглобулинов приводит к неспецифической агглютинации эритроцитов, а низкая их концентрация значительно снижает чувствительность РНГА. В связи с этим предварительно определяли оптимальную сенсibiliзирующую концентрацию иммуноглобулинов специфических сывороток. Было установлено, что сенсibiliзирующая доза (концентрация белка) антиротавирусной иммунной сыворотки составила 280 мкг/мл, а иммунной сыворотки к коронавирусу крупного рогатого скота - 260 мкг/мл.

Сенсibiliзацию проводили, смешивая равные объемы танализованных эритроцитов и предварительно прогретой в течение 30 мин при 56°С иммунной сыворотки (соответственно антиротавирусной и антикоронавирусной) в оптимальной концентрации. Кроме того, вносили 3 части изотонического раствора натрия хлорида с рН 7,2 и 5 частей 0,1%-ного раствора хлорида хрома. Смесь, периодически помешивая, выдерживали при комнатной температуре в течение 5 мин. По истечении указанного времени смесь тщательно отмывали с использованием ФБР с рН 7,2, а затем приготовленные эритроцитарные диагностикумы ресуспендировали в консерванте до 1%-ной концентрации. Приготовленный диагностикум сохранял свои основные качества в течение 8 мес при условии хранения его при 4°С.

На всех этапах изготовления диагностикумов осуществляли контроль на самоагглютинацию. Специфичность приготовленных диагностикумов определяли путем постановки РНГА в микротитраторе Такачи, где в качестве антигенов использовали стандартные диагностикумы вирусов ИРТ, ПГ-3, аденовирусов, респираторно-синцитиального вируса, вирусной диареи крупного рогатого скота, а также антигенов рота- и коронавирусов. При этом было установлено, что с гомологичными антигенами положительные результаты РНГА были получены в разведении антигенов 1:256 при высокой степени агглютинации (не менее 3+), в то время как с гетерологичными антигенами агглютинация или полностью отсутствовала, или наблюдалась в титре 1:2 с низкой степенью агглютинации (1+).

При постановке РНГА готовили последовательные двойные разведения исследуемого вирусосодержащего материала, а затем в каждую лунку вносили равный объем эритроцитарного диагностикума. Учет результатов проводили после полного оседания эритроцитов в

контроле и оценивали степень агглютинации по 4-бальной системе в крестах. Показатель положительной реакции – агглютинация эритроцитарного диагностикума с гомологичным антигеном в титре 1:4 и выше при интенсивности агглютинации в 2+.

Используя приготовленные антительные эритроцитарные диагностикумы, осуществляли исследование проб фекалий новорожденных телят с признаками диареи. Изучение эффективности индикации ротавирусных антигенов проводили в сравнении с РИД и ИФА (табл. I).

Таблица I. Сравнительная эффективность методов диагностики ротавирусной инфекции

Номер хозяйства	Количество исследованных проб	Положительные результаты реакций, %		
		РИД	РНГА	ИФА
№ 1	13	23,1	53,8	84,6
№ 2	15	26,7	53,3	73,3
№ 3	33	39,4	51,5	69,7
№ 4	17	29,4	47,1	70,6
№ 5	27	25,9	62,9	77,8
№ 6	19	31,6	57,9	73,7
№ 7	21	33,3	61,9	80,9

РНГА более чувствительная, чем РИД, и уступает по чувствительности ИФА. При этом максимальный титр в РНГА составил 1:256 с высокой степенью агглютинации 3+.

Таблица 2. Сравнительная эффективность методов диагностики коронавирусового энтерита

Номер хозяйства	Количество исследованных проб	Положительный результат реакций, %		
		РТГА	РНГА	ИФА
№ 1	27	40,7	55,6	70,4
№ 2	19	36,8	52,6	68,4
№ 3	17	29,4	52,9	64,7
№ 4	33	51,5	69,7	87,9
№ 5	49	42,8	67,3	83,7

Изучение эффективности антительного эритроцитарного диагностикума, предназначенного для выявления коронавирусных антигенов, проводили в сравнении с РТГА и ИФА (табл. 2).

С помощью РНГА выявлялись все случаи наличия вирусных антигенов, диагностированных в РТГА и большинство выявленных при ИФА. Предельное разведение вирусосодержащего материала, использованного в качестве антигена, составило 1:256.

В ы в о д ы

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что используемые антительные эритроцитарные диагностикумы, предназначенные для постановки РНГА с целью выявления рота- и коронавирусных антигенов, обладают выраженной специфичностью. Использование антительного диагностикума более перспективно, так как позволяет определить инфицированных животных на более ранних стадиях, провести дифференциальную диагностику этиологии энтеритов новорожденных телят, изучить эпизоотологическую ситуацию в хозяйствах стационарно неблагополучных по желудочно-кишечным заболеваниям телят.

Совпадаемость результатов исследований с общепринятыми методами диагностики свидетельствует о целесообразности применения РНГА. Диагностическая эффективность РНГА при индикации ротавирусных антигенов составила 47,1-62,9%, а при выявлении коронавирусных - 52,6-69,7%.

Применение в РНГА изготовленных иммуноглобулиновых эритроцитарных диагностикумов значительно эффективнее ретроспективной диагностики, а их наличие в достаточном количестве позволит использовать РНГА в производственных лабораториях для диагностики диарейных болезней телят рота- и коронавирусной этиологии.

УДК 619:616.98:579.842.11-084:

И.М. КАРПУТЬ, доктор ветеринарных наук, профессор
Ю.Г. ЗЕЛЮТКОВ, кандидат ветеринарных наук, доцент
В.В. ГРЕБЕНКО, кандидат биологических наук, ст.науч.сотр.

ПРОФИЛАКТИКА КОЛИБАКТЕРИОЗА БРОЙЛЕРОВ ЭНТЕРОБИЦИДИНОМ

В последнее время среди заболеваний бактериальной этиологии в птицеводческих хозяйствах широко распространен колибактериоз, наносящий значительный экономический ущерб, складывающийся из прямых (падеж, выбраковка, вынужденный убой, снижение про-