

**ПОДБОР ЭРИТРОЦИТОВ ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ
ЭРИТРОЦИТАРНОГО ДИАГНОСТИКУМА С АНТИГЕНАМИ ВИРУСА
ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЦЫПЛЯТ**

Алиева А.К., д.б.н., доцент ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный экономический университет", г. Санкт-Петербург, Россия

Красочко П.А., д.в.н., д.б.н., профессор УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Красочко И.А., д.в.н., профессор УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Жук Д.Л., м.в.н. УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Кашко Л.С., к.в.н., доцент ФГБОУ ВО Смоленская ГСХА, г. Смоленск, Россия

Аннотация. В борьбе с особо опасными инфекционными заболеваниями определяющее значение имеют лабораторная диагностика и индикация возбудителей. Всестороннее и детальное изучение возбудителя инфекционной анемии цыплят позволит разработать метод получения антигенного эритроцитарного диагностикума, который предназначен для выявления специфических антител к возбудителю инфекционной анемии в сыворотке крови.

Ключевые слова: инфекционная анемия цыплят, антиген эритроциты, эритроцитарный диагностикум, реакция непрямой гемагглютинации.

Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ, синдром дерматоподобной анемии, «синее крыло», «геморрагический синдром») – высококонтагиозная вирусная, иммунодефицитная болезнь цыплят и субклиническая инфекция кур, характеризующееся постоянной или рецидивирующей лихорадкой, коматозным состоянием, поражением кроветворной и иммунной систем, гангренозным дерматитом, серозными отеками подкожной клетчатки, злокачественной анемией [1, 4, 8].

Возбудитель классифицирован как представитель рода *Circovirus* семейства *Circoviridae*. Вирус анемии цыплят – ДНК-содержащий, простоорганизованный вирус, икосаэдральной формы с диаметром частиц 23-25 нм, не обладает гемагглютинирующей активностью. Однониточная кольцевая ДНК находится в вирусных капсидах, каждый состоит из 32 структурных субъединиц и имеет один главный структурный белок [2, 3, 8].

Что касается диагностики инфекционной анемии цыплят, то для проведения серологических исследований используют реакцию нейтрализации (РН), реакцию непрямой иммунофлюоресценции (РНИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА). Выделение ИАЦ общепринятыми

методами - достаточно трудоемкий и длительный процесс, который не позволяет быстро и надежно выявлять вирус в клинических образцах. В связи с этим особое внимание нужно уделять ранней диагностике заболевания с использованием современных лабораторных методов [4, 5].

В настоящее время в серологических исследованиях широко применяются разнообразные реагенты для выявления антител и антигенов, основанные на непрямых методах серологического анализа. Среди них важное место занимают иммунологические реакции с сорбированными препаратами, прототипом которых явились клетки кишечной палочки, покрытые лизатом других бактерий и агглютинируемые сывороткой против лизата.

Для конструирования диагностикумов большинство исследователей используют в качестве клеточной основы эритроциты.

Процесс приготовления эритроцитарного диагностикума состоит из ряда последовательных этапов, основными из которых являются:

- выбор эритроцитов;
- их фиксация;
- получение сенситина;
- сенсибилизация эритроцитов антигенами различной природы;
- стабилизация готового препарата.

Выбор тех или иных носителей определяет главные характеристики серологических реакций – ее чувствительность, специфичность, воспроизводимость. Учитывая такой важный критерий как жизнеспособность, можно разделить любые носители на две группы. В первую группу носителей входят в основном живые клетки и бактериофаги. В качестве живых клеток чаще всего используют эритроциты – нагруженные антигеном нативные эритроциты лизируются антителами к сенситину в присутствии комплемента. Лишенные жизнеспособности клетки и любые другие частицы используют как биологически инертные носители (вторая группа). К лишенным жизнеспособности носителям относят и фиксированные различными химическими реагентами эритроциты. На принципе использования в качестве носителя антигена эритроцитов широкое распространение получила реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации. Применение РНГА в диагностических целях исходит из высокой сорбционной активности эритроцитов.

Относительно других носителей антигенов и антител в РНГА эритроциты имеют существенные преимущества. Во-первых, они общедоступны и сравнительно просты в получении в "чистом" виде, и обладают примерно одинаковым размером. Во-вторых, они способны образовывать стойкие суспензии в изотонических солевых растворах и не оседают за короткое время. И наконец, эритроциты обладают хорошо выраженной сорбционной способностью, напрямую или вследствие специальной обработки. Вследствие этого РНГА главным образом выполняют с использованием эритроцитов в качестве носителя антигенов или антител [6-9, 11, 12].

Следует отметить, что воспроизводимость результатов РНГА ограничивается кратковременной пригодностью нативных эритроцитов, свежие

эритроциты пригодны к употреблению весьма ограниченное время (4-7 дней) (5,9). Этот недостаток эритроцитов как носителя антигена или антител в РНГА может быть преодолен их стабилизацией, для которой применяется много методов. Так, для РНГА эритроциты стабилизируют формальдегидом, глутаровым альдегидом, акриловым альдегидом. Создание эритроцитарных диагностикумов из стабилизированных эритроцитов позволяет преодолеть те трудности, которые возникают при использовании нативных эритроцитов.

Диагностикумы приготовленные на основе формализированных эритроцитов уступают по серологической активности нативным эритроцитам. Кроме того, в процессе хранения такие препараты могут спонтанно агглютинироваться, лизироваться и частично утрачивать активность [6-9].

При исследовании эритроцитов, обработанных различными фиксирующими веществами, установлены их некоторые общие свойства:

- по морфологии они практически не отличаются от свежих;
- не гемолизируются в гипотонических растворах, в воде и после замораживания-оттаивания;
- могут быть лиофильно высушены;
- их поверхностные структуры сохраняют способность химически модифицироваться (например, танином) и вступать в реакцию с антигенами и антителами.

Главный критерий качества фиксированных эритроцитов – возможность их использования для получения сенсibilизированных препаратов при отсутствии неспецифической агглютинации в стабилизирующих жидкостях.

После подготовки поверхности эритроцитов идет наиболее важный процесс – процесс гемосенсibilизации – окончательный этап изготовления эритроцитарных диагностикумов. Использование танизированных эритроцитов без конъюгирующих веществ очень часто приводит к получению невысокочувствительных и непрочных эритроцитарных диагностикумов из-за того, что в процессе сенсibilизации между сенситином и стромой эритроцитов образуется непрочная ионная связь, которая очень легко распадается при изменении рН среды, температуры хранения, механических воздействиях.

Для упрочения связи между носителем антигена и антигеном применяются различные конъюгирующие вещества — бисдиазобензидин, дифлуородинитробензин, хлористый циан, хлористый и уксуснокислый кадмий, хлорид брома, формальдегид, глутаровый альдегид, бромциан, риванол, амидол и др. .

Использование конъюгирующих веществ способствует устранению тех недостатков, которые имеют танизированные эритроциты, применяемые для сенсibilизации без конъюгирующих веществ.

Выбор рациональных режимов приготовления эритроцитарных диагностикумов до сих пор осуществляется, в основном, эмпирически и в каждом конкретном случае подбирается индивидуально.

Список литературы:

1. Бакулин В.А. Болезни птиц. Санкт–Петербург: Искусство России, 2006. 688 с.
2. Болезни птиц: учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности "Ветеринария" / Б. Ф. Бессарабов [и др.]. Санкт–Петербург; Москва; Краснодар: Лань, 2007. 448 с.
3. Болезни птиц: учебное пособие / А.И.Ятусевич[и др.] ; ред. А.И.Ятусевич, В.А. Герасимчик. Минск: ИВЦ Минфина, 2017. 403 с.
4. Диагностика и патоморфологические изменения в крови и органах иммунной системы птиц при инфекционной анемии цыплят: методические рекомендации / И. Н. Громов [и др.]; УО ВГАВМ, Витебск, 2015.- 36 с.
5. Диагностика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных: вирусные заболевания : монография / А. А. Шевченко [и др.] . - Краснодар : КубГАУ, 2018. - 485 с.
6. Коникова Р.Е., Баяр Г.А. К усовершенствованию методики консервирования эритроцитов для реакции непрямой гемагглютинации // Лаб. дело,-1967.-№4.-С.242-243.
7. Леви М.И. Общие закономерности серологических реакций // В кн.: Практическая иммунология. М.,1969. С.20-45.
8. Леви М.И., Басова Н.Н., Сучков Ю.Г., Орлова Г.М., Герасюк Л.Г., Момот А.Г. Реакция пассивной гемагглютинации и реакция нейтрализации антител при некоторых инфекциях //
9. Носков Ф.С. Реакция непрямой гемагглютинации. В кн.: Иммунологическая диагностика вирусных инфекций / Под ред. Перадзе Т.В.- М.: Медицина, 1985.-С.98-120.Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. - 1962.-№10.-С.40-45.
10. Новые и возвращающиеся болезни животных // А.И.Ятусевич [и др.], // Витебск: ВГАВМ, 2016. 400 с.
11. Bing D.H., Weyand J.G.M., Stavitsky A.B. Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies // Proc. Soc. exp. Biol. -1967.-124.-P.1166.
12. Ling N.R. The attachment of proteins to aldehyde- tanned cells. // Brit. J. Hematol. -1961.-V.7.-P.259.