

А. А. ГЛАСКОВИЧ, А. А. СОЛОНЕКО, Витебский ордена „Знак Почета” ветеринарный институт имени Октябрьской революции

КРОВЕКАПЕЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ НЕПРЯМОЙ ГЕМАГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ВОДОПЛАВАЮЩИХ ПТИЦ

В результате проведенных исследований установили, что РНГА с использованием приготовленного нами эритроцитарного сальмонелла тифимуриум антигена является высокочувствительной и специфической [1, 2]. Однако пробирочный вариант этой реакции не может широко использоваться в производственных условиях для массовой прижизненной диагностики сальмонеллеза водоплавающих птиц из-за трудоемкости и значительных затрат времени.

Для промышленного птицеводства необходимы менее трудоемкие экспресс-методы диагностики, позволяющие сразу же получать результаты. Была определена пригодность сывороточно-капельной реакции непрямой гемагглютинации (СКРНГА) и кровекapельной реакции непрямой гемагглютинации (ККРНГА).

Для определения чувствительности и специфичности СКРНГА с использованием эритроцитарного сальмонелла тифимуриум антигена брали сыворотки, имеющие специфические агглютинины к сальмонелла тифимуриум, и монорецепторные агглютинирующие сальмонеллезные О-сыворотки рецепторов 04, 05, 012; гипериммунные сыворотки к сальмонелла пуллорум-галлинарум; сальмонелла энтеритидис, а также нормальные гусиные, утиные и куриные сыворотки; О-количесыворотки 02, 020, 078, 0149; гипериммунные сыворотки к вирусу инфекционного энтерита гусей (табл. 1).

СКРНГА с монорецепторными агглютинирующими сальмонеллезными О-сыворотками 04, 05, 012, утиными гипериммунными сыворотками к сальмонелла тифимуриум, гипериммунными сыворотками к сальмонеллам, имеющим общие О-антигенные компоненты (пуллорум-галлинарум, энтеритидис), как и пробирочная РНГА, была высокочувствительной. Реакция наступала через 5–7 с и была четко выражена. С нормальными гусиными, утиными и куриными сыворотками, а также с О-количесыворотками, монорецепторными агглютинирующими сальмонеллезными О-сыворотками 03, 010, 019, гипериммунными сыворотками к вирусу инфекционного энтерита гусей СКРНГА во всех случаях была отрицательной. В то же время цельноклеточный антиген в СКРА с О-количесыворотками 02, 020, 078, 0143 и монорецепторными агглютинирующими сальмонеллезными О-сыворотками 03, 010, 019 давал положительные результаты. Это указывает на более строгую специфичность СКРНГА по сравнению с СКРА. По чувствительности и специфичности СКРНГА не уступает развернутой РНГА.

В дальнейшем на 370 птицах, экспериментально зараженных культурой сальмонелла тифимуриум, изучали диагностическую эффективность

Таблица 1. Оценка чувствительности и специфичности РНГА, СКРНГА и СКРА с гомо- и гетерологичными агглютинирующими сыворотками с использованием эритроцитарного сальмонелла тифимуриум антигена

Номер сывороток	РНГА (log ₂)	СКРНГА			СКРА		
		разведение сывороток					
		0	20	40	0	20	40
Монорецепторные агглютинирующие сальмонеллезные О-сыворотки							
04	7,3	++++	++	+	++++	-	-
05	5,3	+	-	-	±	-	-
012	7,3	+++	++	-	++	-	-
Утиные гипериммунные сыворотки к сальмонелла тифимуриум							
213	8,3	++++	++	±	++++	±	-
214	8,3	++++	++++	++	++++	+	±
215	9,3	++++	+++	++	++++	±	-
0178	6,3	+++	+	-	++++	-	-
Гипериммунные сыворотки к сальмонелла пуллорум-галлинарум							
492	5,3	+++	+	-	++	-	-
493	10,3	++++	++	-	++	-	-
494	5,3	+++	+	-	+	-	-
495	5,3	+++	+	-	-	-	-
499	8,3	++++	++++	±	++	-	-
Гипериммунные сыворотки к сальмонелла энтеритидис							
1053	6,3	++++	+	-	++	±	-
1269	6,3	++++	+++	++	++++	+	-
1391	8,3	+++	-	-	++	-	-
1487	7,3	+++	+++	+	+++	++	-
2258	5,3	+++	+	-	+	±	-
Нормальные гусиные сыворотки							
1	0	-	-	-	-	-	-
2	0	-	-	-	-	-	-
3	0	-	-	-	-	-	-
Нормальные утиные сыворотки							
1	0	-	-	-	-	-	-
2	0	-	-	-	-	-	-
3	0	-	-	-	-	-	-
Нормальные куриные сыворотки							
1	0	-	-	-	-	-	-
2	0	-	-	-	-	-	-
3	0	-	-	-	-	-	-

1	2	3	4	5	6	7	8
О-колизыворотки							
02	0	-	-	-	+++	-	-
020	0	-	-	-	+	-	-
078	0	-	-	-	++	-	-
0148	0	-	-	-	++	-	-
Монорецепторные агглютинирующие сальмонеллезные О-сыворотки							
03	0	-	-	-	+	-	-
010	0	-	-	-	++	-	-
019	0	-	-	-	+	-	-
Гипериммунные сыворотки к вирусу инфекционного энтерита гусей							
1	0	-	-	-	-	-	-
2	0	-	-	-	-	-	-
3	0	-	-	-	-	-	-
4	0	-	-	-	-	-	-

ККРНГА для производственного применения. В опытах использовали 142 взрослых гуся, 202 гусенка и 26 кур. 10 гусей заразили подкожно культурой сальмонелла тифимуриум, а 10 гусей – алиментарным методом в дозе по $2 \cdot 10^9$ микробных клеток. Исследование крови проводили через 20, 30, 40, 60 и 90 дней после заражения.

В другом опыте 45 гусей заразили культурой сальмонелла тифимуриум подкожно в дозе $3 \cdot 10^9$ м. к., а 45 гусей – алиментарным методом в дозе $1 \cdot 10^{10}$ м. к. Исследования крови проводили через 5, 10, 20, 40 и 60 дней после заражения.

40 гусят 60-дневного возраста заразили культурой сальмонелла тифимуриум подкожно в дозе $1 \cdot 10^5$ м. к., а 20 гусят такого же возраста – алиментарным путем в дозе $1 \cdot 10^6$ м. к. Кровь исследовали через 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 и 60 дней после заражения.

50 гусят 30-дневного возраста заразили культурой сальмонелла тифимуриум подкожно в дозе $5 \cdot 10^6$ м. к., а 50 гусят – алиментарным методом в дозе $5 \cdot 10^8$ м. к. Кровь исследовали через 5, 10, 15, 25, 35, 45, 55 дней после заражения.

Объективным критерием оценки чувствительности и диагностической ценности ККРНГА является величина минимального титра антител, при котором устанавливается четко выраженное проявление реакции.

Результаты опытов показали, что ККРНГА на стекле с эритроцитарным антигеном проявляется при наличии в сыворотке крови птиц агглютининов, выявляемых РНГА, в титре $6,3 \log 2$ и оценивается в один крест (+). При таком титре реакция наступает через 40–60 с после смешивания сыворотки крови с антигеном (эритроцитарным). При титре агглютининов $7,3 \log 2$ интенсивность ККРНГА оценивается в два креста (++), при наличии

агглютининов в титре $8,3 \log 2$ – в три (+++), $9,3 \log 2$ и выше – в четыре креста (++++).

При одновременном сравнительном изучении ККРА интенсивность в один крест наблюдается при наличии агглютининов в титре $5,3 \log 2$, в два – $6,3 \log 2$, в три – $7,3 \log 2$ и в четыре креста – $8,3 \log 2$ и выше.

Следовательно, минимальный титр агглютининов, выявляемый ККРНГА, составляет $6,3 \log 2$, а ККРА – $5,3 \log 2$.

Таким образом, по скорости появления, видимой четкости и чувствительности ККРНГА не уступает СКРНГА, а в некоторых случаях она была более четко выражена при параллельной постановке этих реакций с одними и теми же сыворотками крови. Величина минимального титра антител в ККРНГА не зависит от возраста, метода заражения и сроков давности инфицирования птицы.

Опыты показали, что ККРНГА с использованием эритроцитарного сальмонелла тифимуриум антигена обладает высокой диагностической ценностью и по своей чувствительности и количеству выявляемой зараженной птицы значительно превосходит ККРА с цельноклеточным антигеном. Так, через 60 дней после подкожного заражения птицы сальмонелла тифимуриум в дозе $2 \cdot 10^9$ м. к. в ККРНГА реагировало 100% гусей, а в ККРА – ни одной птицы. Через 90 дней после заражения в ККРНГА реагировало 90%, а в ККРА реагирующих не было. Через 20, 30 и 40 дней после заражения птица реагировала в обеих реакциях, но более интенсивной была ККРНГА.

При алиментарном заражении получены аналогичные результаты, интенсивность ККРНГА по сравнению с ККРА была также намного выше.

Высокая диагностическая эффективность ККРНГА была установлена и в опытах при подкожном заражении гусей в дозе $3 \cdot 10^9$ м. к. и при алиментарном заражении в дозе $1 \cdot 10^{10}$ м. к. Через 5 дней после подкожного заражения с помощью ККРНГА выявлено 80% больных птиц, а по ККРА – только 40%. Причем ККРНГА интенсивностью в два креста отмечалась в 60% случаев, а в ККРА выявляли лишь однокрестовые реакции.

Через 10 и 20 дней после заражения происходило максимальное увеличение агглютининов в крови. В этот период реагировало 100% птиц в обеих реакциях, однако интенсивность ККРА была несколько ниже, чем ККРНГА.

Через 10 дней после заражения интенсивность обеих реакций увеличилась до 3–4 крестов, однако количество реагирующей птицы в 4 креста по ККРНГА было 90%, а по ККРА – только 60%. Через 20 дней после заражения в ККРНГА четырехкрестовых реакций отмечено 100%, а в ККРА – 80%.

Через 40 дней после заражения интенсивность ККРНГА и ККРА снижалась, однако вся птица реагировала в обеих реакциях. ККРНГА четырехкрестовые реакции установлены в 80% случаев, а ККРА – ни в одном случае. Через 60 дней после заражения по ККРНГА реагировали все птицы, из них реакция в 4 креста была у 20%, в 3 креста – у 50% и в один крест – у 30%. По ККРА реагировало только 50% птиц и интенсивность реакции не превышала одного креста.

Превосходство ККРНГА по сравнению с ККРА установлено и в опытах

на 60 и 30-дневных гусятах. Через 5 дней после заражения 30-дневных гусят по ККРНГА реагировали 90% птиц, из них 40% в два креста и 50% – в один крест. По ККРА реагировало 80% птиц, из них 70% в один крест и 10% сомнительно. Через 15 и 25 дней отмечалось максимальное накопление агглютининов и интенсивность ККРНГА была не ниже 4 крестов. Интенсивность ККРА в 4 креста наблюдалась у 40% птиц. В дальнейшем интенсивность реакций снижалась.

Через 45 дней после заражения в ККРНГА реагировала вся птица с интенсивностью не более одного креста. Через 55 дней после заражения в ККРНГА реагировало 100% гусят, а в ККРА – только 20%.

В опытах на взрослых гусях и гусятах специфичность показаний ККРНГА была подтверждена данными бактериологического исследования внутренних органов реагирующей птицы. Сальмонелла тифимуриум была выделена в 60% случаев от гусят и в 45% от гусей через 40 дней после заражения. Через 2 мес показания ККРНГА бактериологически подтверждались не более чем в 20–25% случаев.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что ККРНГА является высокочувствительным методом прижизненной диагностики сальмонеллеза водоплавающей птицы. ККРА с цельноклеточным антигеном уступает ККРНГА по интенсивности, визуальной четкости и скорости проявления реакции, а также по количеству выявляемой птицы. С помощью ККРНГА в начальные и отдаленные сроки после заражения реагирующей птицы выявляется в два и более раз больше, чем при использовании ККРА.

Вывод

1. ККРНГА при сальмонеллезе водоплавающих птиц обладает высокой диагностической ценностью и может быть использована для массовой прижизненной диагностики. По чувствительности и специфичности она значительно превосходит ККРА с цельноклеточным антигеном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гласкович А. А. Реакция непрямого гемагглютинации при сальмонеллезе гусей // Тез. докл. 22-й конф. молодых ученых и аспирантов по птицеводству 11–13 июля 1979 г. – Загорск, 1979. – С. 98–99.
2. Киржаев Ф. С., Гласкович А. А. Диагностическая ценность реакции непрямого гемагглютинации при *Salm. typhimurium*-инфекции гусей // Вопросы охраны здоровья сельскохозяйственной птицы: Сб. науч. тр./ Всесоюз. н.-и. и технологический ин-т птицеводства. – Загорск, 1980. – Т. 49. – С. 107–110.