

УДК 619:616.98:578.828.11П:636.22/28

ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОАГГУЛИНИРУЮЩЕГО ДИАГНОСТИКУМА  
ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВЛКРС

Лынченко И.Ю.

Одним из способов повышения специфичности иммуноглобулиновых диагностикумов является использование клеток золотистого стафилококка, несущих протеин А. Протеин А обладает способностью вступать в соединение с IgG человека, кроликов, морских свинок, крыс, мышей, коз и крупного рогатого скота за счет связывания белком А Fc-фрагмента. Коаггулинирующий диагностикум со специфическими IgG способен специфически соединяться с антигенами, не только находящимися в растворе, но и фиксированными на клеточной поверхности. При этом Fab<sub>2</sub>-фрагменты антител ориентированы наружу, это значительно повышает специфичность такого диагностикума и устраняет неспецифическую связь с клетками. Коаггулинирующий диагностикум широко применяют для выявления вирусных и бактериальных инфекций. Однако данных о применении его для диагностики лейкоза крупного рогатого скота нет.

Для изготовления коаггулинирующего диагностикума брали следующие компоненты: стафилококковый реагент, содержащий протеин А; физиологический раствор; IgG к ВЛКРС; 0,1 М фосфатный буфер, рН 8,0; фенол; дистиллированную воду.

Стафилококковый реагент производства НИИ им. Л. Пастера (г. Санкт-Петербург), содержащий протеин А, лиофилизирован в объеме 2 мл в наполнителе следующего состава: пептон-3%, сахароза-1%, БСА-0,5%. Флакон, содержащий стафилококковый реагент, растворяли в 2 мл дистиллированной воды и оставляли на 2 часа до полной регидратации. После этого производили трехкратное отмывание золотистого стафилококка 0,1 М фосфатным буфером, рН 8,0 на центрифуге. После последнего центрифугирования осадок стафилококка применяли для изготовления диагностикума.

Коаггулинирующий диагностикум готовили следующим образом:

- осадок стафилококка разводили физиологическим раствором до 10 мл;
- добавляли 0,2 мл IgG к ВЛКРС (концентрация по белку 2 мг/мл);
- оставляли на один час при комнатной температуре, постоянно перемешивая на магнитной мешалке;
- центрифугировали, осадок трижды промывали физраствором и взвешивали его в 10 мл раствора следующего состава: физраствор + 0,3 фенола;

-диагностикум хранили при 4<sup>0</sup>С в течение 4 месяцев.

Из исследуемой крови, обработанной трилоном-Б, готовили мазки. Мазки приготавливали немедленно после взятия крови по общепринятым методикам.

Фиксацию мазков для индикации инфицированных ВЛКРС лимфоцитов с помощью коаггулинирующего диагностикума проводили ацетоном, охлажденным в морозильнике, в течение 10 минут.

На фиксированный мазок наносили 2-3 капли коаггулинирующего диагностикума, накрывали покровным стеклом, затем помещали в условия влажной камеры (чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой) и инкубировали в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 30 мин. После этого мазки тщательно промывали физраствором, высушивали и окрашивали по Романовскому-Гимзе в течение 1 часа. Полученные препараты промывали, высушивали и просматривали под обычным световым микроскопом (x900).

Контроль специфичности коаггулинирующего диагностикума осуществляли в следующих системах: а) стафилококковый диагностикум + вирусный антиген из "Набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота" производства государственной Курской биофабрики, б) стафилококковый диагностикум + физиологический раствор.

Учет реакции проводили, начиная с контрольных проб. Наличие агглютинации в смеси диагностикума и вирусного антигена из "Набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота" производства государственной Курской биофабрики и отсутствие ее в смеси диагностикума и физиологического раствора - показатель специфичности диагностического препарата.

При обнаружении лимфоцита, инфицированного ВЛКРС, отмечали адсорбцию коаггулинирующего диагностикума на поверхности лимфоцитов в виде "шариков", покрывающих ту или иную поверхность площади лимфоцита.

При отрицательной реакции адсорбции клеток золотистого стафилококка не отмечали.

Диагноз считали установленным: при обнаружении адсорбированных клеток стафилококкового диагностикума на поверхности лимфоцитов периферической крови.

УДК 619:616.9-07-084

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ  
БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

Медведев А.П., Вербицкий А.А., Жаков В.М.

УО "Витебская государственная академия ветеринарной медицины", Республика Беларусь

Важным направлением развития современной ветеринарной науки является разработка высокочувствительных, высокоспецифичных и ускорен-

ных методов диагностики и выделения возбудителей инфекционных болезней, а также создание эффективных специфических биопрепаратов.