

В опытах использовали серонегативных подсвинков 2-3 мес. возраста живой массой 25-30 кг. Животных иммунизировали путем внутримышечного введения вакцины в объеме 1 мл. Кровь у подсвинков отбирали до и через 7, 14 и 21 день после вакцинации для исследования в РНФМБ и реакции нейтрализации гистохимическим вариантом ИФА. Реакцию нейтрализации флюоресцирующих микробляшек ставили в соответствии с "Временным наставлением по применению набора препаратов для обнаружения вируса КЧС и специфических антител к нему в реакции иммунофлюоресценции" (4) на перевиваемой культуре гибридных клеток $A_4 \times C_2$ (СПЭВ+ спленциты свиней). Реакцию нейтрализации гистохимическим вариантом иммуноферментного анализа (ИФА) ставили в соответствии с "Временным наставлением по применению набора препаратов для иммунопероксидазных реакций при классической чуме свиней" (5) на перевиваемой культуре клеток РК-15 (почки свиней) Для обеих реакций использовали вирус КЧС, штамм "Ши-Мынь", адаптированный к культурам клеток $A_4 \times C_2$ и РК-15.

Результаты исследования. Титры вируснейтрализующих антител у подсвинков на 7 день после введения 100 ИД₅₀ лапинизированной вирусвакцины против КЧС из штамма "Синлак" составили около $4,0 \log_2$ как в РНФМБ, так и в реакции нейтрализации гистохимическим вариантом (ИФА).

На 14 день после иммунизации активность сывороток крови у подсвинков составила в РНФМБ от $5,23 \pm 0,2$ до $6,0 \pm 0,3 \log_2$, а в реакции нейтрализации гистохимическим вариантом ИФА от $5,0 \pm 0,13$ до $6,0 \pm 0,2 \log_2$.

Через 21 день титры вируснейтрализующих антител в РНФМБ составили от $5,25 \pm 0,15$ до $6,33 \pm 0,2 \log_2$, а в ИФА от $5,0 \pm 0,12$ до $6,25 \pm 0,15 \log_2$.

До вакцинации титры вируснейтрализующих антител в обеих реакциях были меньше $2,0 \log_2$.

Выводы.

1. По данным наших исследований, на 7-ой день после иммунизации лапинизированная вирусвакцина против КЧС из штамма "Синлак" способствует выработке вируснейтрализующих антител в титрах около $4,0 \log_2$.

2. На 14 день после вакцинации титры антител возрастают и достигают к 21 дню в РНФМБ $6,3 \pm 0,2 \log_2$, а в реакции нейтрализации гистохимическим вариантом ИФА $6,0 \pm 0,2 \log_2$.

Результаты РНФМБ и гистохимического варианта ИФА близки между собой и отличаются не больше, чем на $0,5 \log_2$. Следовательно, данные методы можно применять для оценки антигенной активности лапинизированных вирусвакцин против КЧС.

Литература

1. Вишняков И.Ф., Куриннов В.В., Перетькин А.С. Обнаружение нейтрализующих антител к вирусу классической чумы свиней // Ветеринария. - 1991. - № 11 - С. 31-32.
2. Куриннов В.В., Вишняков И.Ф., Хухоров И.Ю. Современные эпизоотологические, патологические и диагностические особенности классической чумы свиней // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии, эпизоотологии: Материалы научной конференции ВНИИВВиМ. - Покров, 1992. - Ч.1 - С. 75-86.
3. Лыска В.М. Разработка и усовершенствование иммунологических методов диагностики КЧС: Авторефер. дис. на соискание ученой степени кандидата биологических наук. - Покров, 1999. - 25 с.
4. НТД на "Набор препаратов для обнаружения вируса КЧС и специфических антител к нему в реакции иммунофлюоресценции": Утв. Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ (1997 г.)
5. Временное наставление по применению набора препаратов для иммунопероксидазных реакций при классической чуме свиней: Утв. Департаментом ветеринарии МСХ и П РФ, 1999 г.

УДК 619:616.98:579.882.11

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ХЛАМИДИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Фомченко И.В.

ВСУ «Дрибинская райветстанция», г.п. Дрибин, Могилевская область

Серологические методы диагностики хламидиоза животных основываются на выявлении специфических антител в сыворотках крови больных и переболевших животных. Наиболее распространенным методом лабораторной диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных в Республике Беларусь является реакция длительного связывания комплемента (РДСК). Данная реакция обладает в большинстве случаев низкой чувствительностью, является трудоемкой, её по-

становка осуществляется в течение двух дней. В связи с этим одной из задач наших исследований явилось совершенствование серологической диагностики хламидиоза у сельскохозяйственных животных.

Цель исследования. Изучить применение реакции непрямого связывания (РНСК) серологической диагностике хламидиоза крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Реакция непрямого связывания комплемента, как реакция связывания комплемента и реакция длительного связывания комплемента, предусматривает выявление антител в сыворотке крови больных хламидиозом животных или хламидионосителей. Проведенными исследованиями, нами доказана возможность использования тест-системы для РСК и РДСК в постановке РНСК.

С этой целью в Витебской и Могилевской областных ветеринарных лабораториях был проведен ряд исследований.

Результаты исследования. Исследовали сыворотки крови в РНСК в разведении 1:5 и 1:10 со специфическим антигеном и 1:5 с контрольным антигеном и без антигена. Реакция протекает в три этапа. На первом этапе инкубировали испытуемые сыворотки со специфическим антигеном в дозах по 0,2 мл в течение 60 минут при 37 - 38°C. На втором этапе в реакцию вводили дополнительно позитивную сыворотку, разведенную физиологическим раствором до предельного титра, по 0,2 мл в рабочем разведении согласно результатам титрования его. Смесь (испытуемая сыворотка, антиген, позитивная сыворотка и комплемент) инкубировали в течение 60 минут при температуре 37 - 38°C. На третьем этапе добавляли гемолитическую систему по 0,4 мл и всё это выдерживали 30 минут в термостате при 37 - 38°C.

Одновременно при постановке реакции проводили контроли негативной и позитивной сывороток в двух вариантах: в первом варианте на втором этапе добавляли во все пробирки 0,2 мл индикаторной сыворотки, а во втором - 0,2 мл физиологического раствора. Контроли антигена и гемолитической сыворотки ставили с добавлением во все пробирки 0,2 мл физиологического раствора.

При титрации испытуемого материала от заведомо больных животных с контрольным специфическим хламидийным антигеном получали в разведении 1:5 - 1:160. Поэтому титр 1:5 являлся рабочим разведением для обнаружения хламидий в реакции непрямого связывания комплемента.

О чувствительности РНСК судили по удельному весу положительных результатов в общей сумме случаев диагноза на хламидиоз, подтвержденного микроскопическим методом. Параметр специфичности реакции определяли путем выделения частоты случаев положительных реакций, регистрируемых при постановке РНСК с пробами сывороток крови, как у больных животных, так и у здоровых.

В результате исследований 927 проб сыворотки крови крупного рогатого скота из хозяйств, неблагополучных по хламидиозу. Антитела к возбудителю, хламидиоза выявлены в 235 пробах (211 реагировало положительно, 25 - сомнительно).

При артритной форме хламидиоза у телят исследовали 739 проб сыворотки крови, положительно реагирующих, выявлено 244.

Сыворотку крови от крупного рогатого скота при урогенитальной форме хламидиоза исследовали в количестве 4128 проб, из них реагировали положительно 1705.

Сравнительную эффективность реакции непрямого связывания комплемента и реакции длительного связывания комплемента определяли в Витебской областной ветеринарной лаборатории путем исследования 613 проб сыворотки крови от крупного рогатого скота из хозяйств, неблагополучных по хламидиозу.

В результате исследований 613 проб сывороток крови крупного рогатого скота в реакции длительного связывания комплемента (РДСК) выявлено 82 (13,4%) положительно и 24 (3,9%) сомнительно реагирующих животных. При исследовании сыворотки крови в реакции непрямого связывания комплемента (РНСК) выявлено 138 (22,5%) положительно и 24 (3,9%) пробы, реагирующих сомнительно. Следует отметить, что сыворотки крови положительно и сомнительно реагирующих животных в реакции длительного связывания комплемента в 100% случаев реагировали положительно и в реакции непрямого связывания комплемента. У этих животных, реагирующих в реакции непрямого связывания комплемента, диагноз был подтвержден микроскопическим методом. Это свидетельствует о более высокой чувствительности (на 9,1%) реакции непрямого связывания комплемента по сравнению с реакцией длительного связывания комплемента.

Таким образом реакция непрямого связывания комплемента выявляет не связывающиеся с комплементом хламидиозные антитела в сыворотке крови крупного рогатого скота и на 9,1 % эффективнее реакции длительного связывания комплемента.