

Ю. Г. ЗЕЛЮТКОЎ, П. А. КРАСАЧКА

**АТРЫМАННЕ АНТЫГЕННАГА ЭРЫТРАЦЫТАРНАГА
ДЫЯГНОСТЫКУМА ВІРУСНАЙ ДЫЯРЭІ
БУЙНОЙ РАГАТАЙ ЖЫВЁЛЫ**

Пытанне дыягностикі вірусных пнеўмаэнтэратаў буйной раЗатай жывёлы, у прыватнасці віруснай дыярэі, у цяперашні час набывае актуальнае значэнне. Для выяўлення супрацьвірусных антыцелаў да вірусу дыярэі буйной раЗатай жывёлы выкарыстоўваецца рад сералагічных

рэакцый — імунадыфузіі (РІД), звязвання камплемента (РЗК), нейтралізацыі (РН). Але гэтая рэакцыя маюць рад недахопаў: валодаючы нізкай адчувальнасцю (РІД і РЗК), працягласцю пры ўліку вынікаў (РН і РІД), вялікім расходам культуры клетак (РН).

Выкарыстанне рэакцыі непрамой гемаглютынацыі для выяўлення супрацьвірусных антыцелаў ліквідуе гэтая недахопы. Перавагамі названай рэакцыі з'яўляецца прастата ў пастаноўцы, даволі высокія спецыфічнасць і дыягнастычная інфарматыўнасць; яна эканомная пры пастаноўцы як па працягласці, так і па кампанентах рэакцыі.

Мэтай нашага даследавання з'явілася распрацоўка антыгеннага эрытрацитарнага дыягностыкума вірусу дыярэі буйной рагатай жывёлы і выкарыстанне яго для выяўлення антыцелаў у сываратках крыві хворых і перахварэўшых жывёлін.

Матэрыялы і методы. За аснову былі ўзяты методы прыгатавання эрытрацитарных дыягностыкумаў па [1, 3].

Носьбітам антыгену служылі эрытрациты буйной рагатай жывёлы, якія атрымлівалі ад клінічна здаровых бычкоў ва ўзросце 16—18 мес і стабілізавалі шляхам злучэння адной часткі 10%-най наважкі адмытых ізатанічным растворам эрытрацитаў і адной часткі 0,2%-нага раствору акралеіну на фасфатным буферным растворы на працягу 30 мін пры 37°C. Пасля адмывання эрытрациты захоўвалі ва ўмовах халадзільніка пры +2÷+4°C [2].

Для павышэння сарбцыінай здольнасці эрытрацитаў і скорасці іх седыментацыі праводзілі танізацыю шляхам злучэння раствору таніну ў разбаўленні 1:20 000 (адна частка) і 5%-най наважкі стабілізаваных акралеінам эрытрацитаў буйной рагатай жывёлы на працягу 30 мін пры 37°C.

Для сенсіблізацыі выкарыстоўвалі антыген вірусу дыярэі, атрыманы шляхам ачысткі яго ў градыенце шчыльнасці цукрозы (10—40%) пры 28 000 аб/мін на працягу 1,5 гадз на прэпаратыўнай ультрацэнтрыфузе «Бекман» і канцэнтравання на ультрацэнтрыфузе пры 42 000 аб/мін на працягу 1 гадз. Павышэнне стабільных антыгенных эрытрацитарных дыягностыкумаў і павелічэнне тэрміну іх захавання абумоўлена выкарыстаннем пры сенсіблізацыі кан'югуючага рэчыва — хларыду хрому ў 0,1—0,2%-най канцэнтрацыі. Пры атрыманні эрытрацитарных дыягностыкумаў кампаненты для сенсіблізацыі злучалі ў наступных пропор-

Таблица 1. Вызначэнне спецыфічнасці антыгеннага эрытрацитарнага дыягностыкума віруснай дыярэі буйной рагатай жывёлін

Антисываратка да вірусу	Ціфр антыце-лаў у РНГА	Ступень гемаглютинацыі
Інфекцыйнага рынатахеіту	1:8	2+
Хваробы Ауескі	1:2	1+
Парагрыпу-3	1:4	2+
Хваробы Ньюкасла	0	0
Адэнавірусаў I падгрупы	1:4	2+
Адэнавірусаў II падгрупы	1:4	2+
Дыярэі (для РН)	1:128	4+
Дыярэі (для РІД і РЗК)	1:128	4+
Рэспіраторна-сінтыцыяльнаму вірусу	1:2	1+
Грыпу А	0	0
Грыпу В	0	0
Грыпу С	0	0
Нармальная сываратка буйной рагатай жывёлы	1:4	2+
Цялячая эмбрыянальная сываратка	0	0
Нармальная сываратка курэй	0	0
Нармальная сываратка каня	1:8	2+
Арнітоза	1:4	2+

Таблица 2. Параўнальная даныя дыягнастычнай эфектыўнасці РНГА і РІД

Гаспадарка	Колькасць даследаваных проб	Вынік РНГА		Вынік РІД
		колькасць дадатных проб	границы ціпра	
№ 1	47	28	1:256	21
№ 2	36	21	1:128	15
№ 3	38	25	1:256	19
№ 4	42	27	1:256	21
Кантроль:				
нармальная сываратка буйной рагатай жывёлы			1:4	—
антисываратка да вірусу дыярэі			1:128	+

Таблица 3. Вынікі даследавання сываратак крыві буйной рагатай жывёлы у РНГА на наяўнасць антыцилаў да вірусу дыярэі

Гаспадарка	Полаўзроставая групы	Колькасць даследаванай сывараткі крыві	Дадатны вынік у РНГА		
			%	з ціпрамі, %	
				1:16—1:32	1:128—1:256
№ 1	Каровы	75	42,6	9,7	34,3
№ 2	Цяляты	45	28,8	19,1	7,9
№ 3	Цяляты	57	49,1	18,2	5,8
№ 4	Цяляты	66	45,5	20,5	10,5
№ 5	Каровы	58	31,0	11,8	38,2

цыях: 50%-ная наважка стабілізаваных акралеінам, танізаваных эрытрацытаў буйной рагатай жывёлы — адна частка; антыген віrusу дыярэі буйной рагатай жывёлы — адна частка; ізатанічны раствор натрыю хларыду (рН 6,5—7,0) — трох часткі; 0,1—0,2%-ны раствор хларыду хрому — пяць частак.

Кампаненты старанна перамешваюць і пакідаюць на 5 мін пры пакаўай тэмпературы, затым тройчы адмываюць 0,02 М забуфераным ізатанічным растворам натрыю хларыду на цэнтрыфуге ОПН-3 пры 3000 аб/мін на працягу 5—10 мін. Атрыманы асадак рэсуспендыруюць да 0,75—1%-най канцэнтрацыі ў кансерванце, які ўяўляе сабой 0,3%-ны феналізаваны ізатанічны раствор натрыю хларыду з 1%-ным растворам нармальной трусынай ці конскай сывараткі, інактываванай пры 56 °C на працягу 30 мін і адсарбіраванай нармальнымі эрытрацытамі буйной рагатай жывёлы пры 37 °C на працягу 30 мін. Тэрмін захавання эрытрацтарнага дыягностыкума віrusнай дыярэі — адзін год пры захаванні пры +2—+4 °C.

Вынікі даследаванняў. З дапамогай прыгатаванага антыгеннага эрытрацтарнага дыягностыкума віrusу дыярэі буйной рагатай жывёлы праводзілі пастаноўку РНГА з выкарыстаннем мікрасістэм, дзе прымнялі даследуемыя сывараткі крывіхворых і падазроных жывёлін у аб'ёме 0,025 мл з разбаўленнямі ад 1:2 да 1:256 і каэфіцыентам 2 і да баўленнем у кожную луначку з расціраванай сывараткай эрытрацтарнага дыягностыкума. Улік вынікаў РНГА праводзілі праз 1,5—2 гадзіны пасля поўнага асаджэння эрытрацтарнага дыягностыкума. Вынікі ацэньваюць па чатырохбалльнай сістэме і выражаютца ў крыжах (+). Серапазітыўная лічыцца сываратка, якая праэрагавала ў РНГА ў развядзенні не ніжэй чым 1 : 16 з аглютынацыяй эрытрацытаў на 2—3—4+.

Для праверкі спецыфічнасці атрыманага эрытрацтарнага дыягностыкума яго правяралі пры выкарыстанні рада супрацьвірусных і нармальных сываратак розных жывёлін. Вынікі праверкі спецыфічнасці прыведзены ў табл. 1.

Акрамя таго, праводзілі даследаванні па вывучэнні параўнальнай

эфектыўнасці РІД і РНГА з распрацаваным намі эрытрацитарным дыягностыкум. Былі даследаваны пробы сывараткі крыві з гаспадараў, стацыянарна небяспечных па рэспіраторных хваробах. Вынікі параўнальнай эфектыўнасці РІД і РНГА прыведзены ў табл. 2. Супадзенне вынікаў РІД і РНГА атрымана ў 100% выпадкаў. Вынікі табл. 1 і 2 паказалі, што атрыманы эрытрацитарны дыягностыкум валодае выразнай спецыфічнасцю і актыўнасцю.

Для вывучэння дыягнастычнай эфектыўнасці прыгатаванага антыгенага эрытрацитарнага дыягностыкума выяўленне жывёлін з віруснай дыярэй праводзілі шляхам даследавання сывараткі крыві ад 168 цялят і 133 кароў у двухразовай паўторнасці. Пастаноўку РНГА супрадаважалі неабходнымі кантролямі. Вынікі даследавання проб сывараткі крыві дарослых жывёлін і цялят, хворых і падазроных у захворванні, прыведзены ў табл. 3.

Вынікі, атрыманыя пры даследаванні сываратак крыві ад цялят і кароў з розных гаспадараў, паказваюць, што вірусная дыярэя шырока распаўсюджана. Сярод кароў яна рэгіструецца ў 31,0—42,6%, сярод цялят—у 28,8—49,1% выпадкаў пры даволі высокім цітры антыцелаў.

Вывады

1. Сенсібілізацыя стабілізаваных акралеінам, танізаваных эрытрацитаў буйной рагатай жывёлы вірусам дыярэі пры дапамозе кан'югіруючага рэчыва хларыду хрому дазваляе атрымаць высокаактыўны эрытрацитарны дыягностыкум, які валодае высокімі спецыфічнасцю і дыягнастычнай інфарматыўнасцю.

2. Даследаванне сываратак крыві ў РНГА дазволіла выявіць яе высокую дыягнастычную вартасць і вызначыць цялят з віруснай дыярэй у 41,1% выпадкаў.

3. Выкарыстанне РНГА ў дыягностицы віруснай дыярэі дазваляе высветліць эпізаатычную сітуацыю ў гаспадарцы, правесці дыферэнцыяльную дыягностыку, выявіць інфікаваных жывёлін на больш ранніх стадыях захворвання.

Summary

The experiments have revealed that the prepared virus erythrocyte diagnosticum designed for detecting diarrhea virus antibodies in RIHA has a rather high specificity and diagnostic reliability. It detects 28.8 to 49.1% of infected calves at early stage of the disease.

Літаратура

1. Жавненко В. М. // Ветеринария. 1988. № 1. С. 32—33.
2. Носков Ф. С. // Иммунологическая диагностика вирусных инфекций. М., 1985. С. 98—119.
3. J andl J. H., Simmons R. Z. // Brit. J. Haematol. 1957. N 3. P. 19.