

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ДИАГНОСТИКУМОВ ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Представлены результаты исследований возможности изготовления и использования целлюлозных диагностикумов с применением респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота.

Ключевые слова: крупнорогатый скот, респираторно-синцитиальный вирус, экспресс-диагностика, реакция агглютинации целлюлозы.

I.Ya. Stroganova

CELLULOSE DIAGNOSTICUM USE FOR EXPRESS DIAGNOSTICS OF THE CATTLE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS

The research results on possibility of making and using the cellulose diagnosticums with application of the cattle respiratory syncytial virus are given.

Key words: cattle, respiratory syncytial virus, express diagnostics, cellulose agglutination test.

Респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота наносят огромный экономический ущерб животноводству, особенно при условии его интенсивного ведения. В хозяйствах мясо-молочного направления они чаще протекают по типу энзоотической бронхопневмонии [1].

Одним из многих возбудителей, вызывающих болезни органов дыхания у крупного рогатого скота, является вирус респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ), относящийся к семейству парамиксовирусов, роду пневмовирусов. Клинически болезнь проявляется в основном поражением нижних отделов респираторного тракта, повышением температуры, затрудненным дыханием, одышкой, выделениями из носа, сильным кашлем с последующим развитием интерстициальных бронхопневмоний и эмфизем [2].

Вирус впервые выделен от крупного рогатого скота с симптомами острого респираторного заболевания М.Ф. Рассауд с соавт. в 1970 году. В настоящее время РС-инфекцию крупного рогатого скота регистрируют во всех странах мира с развитым животноводством, а в нашей стране – с 1975 года [2–5].

В отличие от других вирусных респираторных инфекций, эта болезнь остается недостаточно изученной в связи со сложностью выделения и культивирования возбудителя. Трудности культивирования, в свою очередь, затрудняют получение вирусного сырья в достаточном количестве и с высокой инфекционной активностью для изготовления диагностических препаратов и средств специфической профилактики [2–7].

В литературе имеются сообщения о создании диагностических тест-систем на основе полимерных супензий для диагностики респираторно-кишечных заболеваний крупного рогатого скота вирусной этиологии [8,9].

В свое время в Институте иммунологии МЗ СССР были разработаны антителный и антигенный диагностикумы на основе порошковой целлюлозы для экспресс-диагностики респираторно-синцитиальной инфекции человека.

Цель исследований. Изучение возможности использования целлюлозных диагностикумов для экспресс-диагностики РС-инфекции крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Использовали РС-вирус крупного рогатого скота штамма «РС-Б» с титром 3–4 Ig ТЦД50/мл.

Вирус культивировали в линиях клеток: почки эмбриона овцы (FLK), почки эмбриона коровы (П₆Э), почки теленка (Т-1).

Для культивирования вируса применяли питательные среды Игла и Игла МЕМ с содержанием 2% фетальной сыворотки крупного рогатого скота и антибиотиков по 100 ЕД/мл.

Инфекционную активность вируса определяли титрованием по цитопатическому действию.

Специфические сыворотки к штамму «РС-Б» получали на морских свинках и использовали с титром антител к РС-вирусу крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) 6–7 log2.

Результаты исследований и их обсуждение. Сотрудниками лаборатории препартивной биохимии антигенов Института иммунологии были изготовлены 8 микросерий диагностикумов, антигенных для выявления антигена РС-вируса крупного рогатого скота, и антителных для выявления специфических антител к нему, испытанные нами в экспресс-методе реакции агглютинации целлюлозы (РАЦ).

Механизм реакции РАЦ основан на непрямой реакции агглютинации частиц целлюлозы, сенсибилизованных антигенами РС-вируса или иммуноглобулинами соответствующей специфичности.

РАЦ применяли в качественной и количественной постановке. На предметное стекло наносили 40–50 мкл исследуемого и контрольного образцов с последующим добавлением антигенного или антителного диагностикума в равном объеме. Положительные результаты РАЦ учитывали через 3–5 мин в крестах по 3-балльной системе:

- ++++ – крупнозернистая агглютинация;
- +++ – мелкозернистая агглютинация;
- ++ – мелкозернистая агглютинация в незначительных количествах;
- – кучкование диагностикума в центре или его равномерное распределение в исследуемом образце.

Определение специфичности диагностикумов проводили в сравнительных исследованиях культуральных сред без вируса и содержащих РС-вирус, ротавирус, вирус инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, adenovirus, а также специфических сывороток к указанным вирусам. Результаты показали, что диагностикумы антигенный и антителный были специфичными и реагировали только с гомологичными антигеном и сывороткой.

Чувствительность диагностикума антигенного определяли по накоплению штамма «РС-Б» в линии клеток FLK и П₅Э. С этой целью готовили десятикратные разведения вируса, которые исследовали в РАЦ и параллельно титровали по ЦПД.

Было установлено, что РАЦ менее чувствительна, чем метод титрования по ЦПД. В вирусодержащей культуральной жидкости антиген РС-вируса в РАЦ выявлялся в титре 1,5 Ig ниже.

Чувствительность диагностикума антителного определяли в сравнительном исследовании сывороток крови крупного рогатого скота в РАЦ и РНГА. Всего исследовали 638 сывороток. Совпадение результатов исследований (положительных и отрицательных) установили в 396 случаях, что составило 62,07%.

Полученные данные свидетельствуют о том, что РАЦ с использованием диагностикума антителного менее чувствительна, чем РНГА (чувствительность РНГА изучена в сравнении с реакцией нейтрализации). Совпадение результатов РАЦ и РНГА составило 62,07%.

Выводы

В результате проведенных исследований было установлено, что при помощи РАЦ с использованием целлюлозных диагностикумов, изготовленных из штамма «РС-Б» РС-вируса крупного рогатого скота, можно в короткий срок (2–5 мин) получить результат, а постановка реакции не представляет методических сложностей. Однако диагностикумы антигенный и антителный, являясь специфичными, недостаточно чувствительны для выявления истинных титров вируса и антител.

Литература

1. Система ветеринарно-санитарных, профилактических и лечебных мероприятий против инфекционных болезней крупного рогатого скота в хозяйствах Российской Федерации / М.И. Гулюкин [и др.]; ГНУ ВИЭВ, ФГУ «Центр ветеринарии». – М., 2007. – С. 14.
2. Baker J.C. Bovine respiratory syncytial virus // Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. – 1997. – Vol. 13. – P. 425–454.
3. Гуненков В.В., Халенев Г.А., Сюрин В.Н. Респираторно-синцитиальная инфекция // Животноводство и ветеринария. – М., 1975. – Т.8. – С. 70–76.
4. Метревели Г.Д. Биологические свойства вируса и серологическая диагностика РС-инфекции крупного рогатого скота: автореф. дис. ...канд. биол. наук. – М., 1989. – 19 с.
5. Valarcher, J-F., Taylor G. Bovine Respiratory Syncytial Virus Infection // Vet. Res. – 2007. – Vol. 8. – P. 153–180.
6. РНГА в серодиагностике респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота/ А.В. Васильев [и др.] // Ветеринария. – 1988. – №10. – С. 33–34.
7. Матвеева И.Н. Получение антигена респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота для использования в ИФА // Ветеринария. – 2007. – № 11. – С. 49–51.
8. Синтез полистирольных латексов в присутствии смеси ПАВ для иммунодиагностических тест-систем/ С.Б. Марченко [и др.] // Вопросы физ.-хим. биологии в ветеринарии. – М., 2002. – С. 28–31.
9. Использование полимерных суспензий в качестве сорбента вирусов для детекции антител в сыворотках крови крупного рогатого скота (Создание диагностических тест-систем для диагностики респираторно-кишечных заболеваний вирусной этиологии) / Я.М. Станишевский [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2006. – Т.51, №4. – С.45–48.