

Опыты показали, что антиидиотип, полученный в результате иммунизации кроликов с применением полного адъюванта Фрейнда и гидроокиси алюминия, можно использовать в качестве антигена в РНГА и ИФА. В РСК они оказались непригодными.

Выводы Таким образом, нами выявлена реальная возможность использования антиидиотипов для массовой эффективной серологической диагностики анаплазмоза овец. В перспективе они будут с успехом использованы для получения активного и практически безвредного вакцинного материала для специфической профилактики.

Эпизоотическая ситуация по протозойным болезням домашних животных должна находиться постоянно под контролем компетентных органов ветеринарной службы и специализированных учреждений. Необходима разработка государственной программы по борьбе с наиболее важными протозоозами, имеющими социально-экономическое значение.

* * *

Қорыта айтқанда, қой анаплазмозын серологиялық балауда антиидиотсенттерді қолданудың нәтижелілігі анықталды. Келешекте олар белсенділігі жоғары, залалдылығы жок, аурудың алдын алуға қолданылатын вакциналық препарат ретінде қолданылады. Үй жануарлары протозойлы ауруларының эпизоотиялық ахуалы малдәрігерлігі қызметі мен арнаулы мекемелердің үздіксіз бақылауында болуы тиіс. Протозойлы аурулар мен күресудің әлеуметтік-экономикалық маңызы болғандықтан, аталған індетті ауыздықтаудың мемлекеттік бағдарламасын жетілдіру қажет.

It was established possibility using antiidiotypes for mass serological diagnostics of sheep's Anaplasmosis.

Veterinary services have to inspect the epizootic situation on Protozoo diseases of domestic animals. It is necessary to develop the public Programmes for struggle with Protozoo diseases, having social-economic meaning.

УДК : 619; 616.993. 192. 5-078: 636.32\38 (574)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ АНАПЛАЗМОЗЕ ОВЕЦ

Сулейменов Т.Т.

Казахский национальный аграрный университет

Введение

В последние годы появилось довольно много сообщений об использовании для диагностики паразитарных болезней иммуноферментного анализа. Высокая чувствительность, специфичность, простота постановки реакции позволяют в короткие сроки провести массовые обследования животных в целях определения распространенности болезни и иммунологического статуса животных.

Наиболее широкое применение иммуноферментный анализ (ИФА) нашел в диагностике малярии, трипаносомоза, токсоплазмоза людей и сельскохозяйственных животных.

Материалы и методы Поскольку ИФА является высокочувствительным и специфичным диагностическим тестом мы поставили перед собой задачу изучить сравнительные аспекты в различных серологических тестах при анаплазмозе овец. Анаплазменный антиген готовили по методу (1). Перед постановкой ИФА антигены проверяли на активность в РСК по общепринятой методике.

Для проведения ИФА необходимо иметь следующие иммунологические реагенты: растворимый антиген, иммуноферментный конъюгат, субстрат для пероксидазы, приготовленный на основе ортофенилендиамина. Представлялось важным отработать оптимальные параметры иммунологической реакции (подбор дозы антигена, время сенсибилизации полистироловых плашек, рН комплексирующего буфера, температуры, ионной силы среды).

На первом этапе возникла необходимость наработки в достаточном количестве конъюгатов для ИФА, поскольку коммерческие препараты отсутствуют. Для приготовления конъюгатов использовали антитела различной степени очистки. Гамма-глобулин получали высаливанием сульфатом аммония из крови: иммуноглобулин выделен ионообменной хроматографией на диэтиламиноэтилцеллюлозе, а антитела очищены на имуносорбентах.

Антисыворотка получена от гипериммунизированных кроликов, титр преципитирующих антител в сыворотке составил 1,5 мг \мл. В наших исследованиях была проведена конъюгация Jg G с пероксидазой как отечественного производства (Rz - 2,6-3,2), так и фирмы Reanal (Rz - 0,6). Полученный конъюгат после диализа концентрации белка 1 мг\мл, после чего к нему добавляли бычий сывороточный альбумин до концентрации 10мг\мл. Иммуноферментный конъюгат до использования хранили при температуре 20 °С.

Результаты исследований

Полученные в процессе отработки постановки ИФА результаты опытов показали, что при сенсibilизации полистироловых плашек за наиболее оптимальную концентрацию растворимого антигена следует брать разведение 1:64, а иммуноферментного конъюгата 1:400. Оптимальное время сенсibilизации полистирола для данного антигена равно 16-18 часов при 4 градусах С. Была сопоставлена эффективность сенсibilизации в зависимости от величины рН и буферного раствора. В качестве комплексирующего буфера был взят 0,01 М фосфатный раствор с добавлением 0,15 М NaCl (рН 7,2-7,4), обеспечивающий наибольшую сорбцию антигена.

Эти опыты позволили нам оптимизировать условия постановки ИФА применительно к анаплазмозу овец и приступить к оценке его диагностической значимости в сравнении с РСК в эксперименте.

ИФА ставили по методике, описанной Volleretal (1976).

В связи с тем, что для каждого конкретного антигена необходима оптимальная концентрация, мы провели подбор дозы анаплазменного антигена для сенсibilизации полистироловых планшетов. Концентрацию иммуноферментного конъюгата и антигена определяли на положительных сыворотках крови в разведениях 1:8 - 1:528.

Результаты реакции оценивали визуально (по интенсивности окрашивания субстрата в опыте и контроле)

Наилучшие результаты получали при использовании в ИФА растворимого антигена, нежели корпускулярного. Оптимальное разведение корпускулярного антигена для сенсibilизации полистироловых планшетов варьировало от 1:32 до 1:64, тогда как при использовании растворимого титр достигал 1:256. Титр этого антигена в РСК составлял 1:8.

Эффективность ИФА в сравнении с РСК и методом микроскопии окрашенных по Романовскому мазков крови изучали на 62 пробах сыворотки от экспериментально зараженных анаплазмозом овец.

Результаты исследования показали, что методом ИФА анаплазмоз регистрируется раньше, уже на 12 день после экспериментального заражения овец. В более отдаленные сроки болезни (20, 30, 45, 60 и 90 дни) показания ИФА и РСК совпадают, однако титры антител, выявляемые в ИФА были значительно выше, что свидетельствует о более высокой чувствительности ИФА.

Известно, что кроме чувствительности чрезвычайно важной характеристикой сероиммунологического, да и всякого другого диагностического теста является специфичность.

Для решения вопроса специфичности ИФА при анаплазмозе мы провели перекрестную титрацию в ИФА сыворотки больных различными протозойными болезнями животных. Для этого брали сыворотки крови больных тейлериозом, саркоцистозом и токсоплазмозом животных.

Результаты во всех случаях показывают достаточную специфичность ИФА при анаплазмозе, поскольку он не давал перекрестных реакций с сыворотками больных не анаплазмозной этиологии.

Установив высокую чувствительность и специфичность ИФА при исследовании сывороток крови экспериментально зараженных анаплазмозом овец, мы решили определить диагностическую ценность ИФА на сыворотках от 262 овец, спонтанно заразившихся анаплазмозом.

Проводили сравнительное изучение полученных результатов в ИФА и РСК. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сравнительное изучение диагностической ценности РСК и ИФА

Кол-во исследованных анаплазмоносителей	Титры антител	Положительных	РСК %	Титры антител	Положительных	ИФА %
262	1:5	262	100	1:5	262	100
	1:10	155	59	1:10	262	100
	1:20	54	20,6	1:20	262	100
	1:40	8	3,0	1:40	262	100
	1:80	2	0,7	1:80	262	100
	1:160	0	0	1:160	118	46
	1:320	0	0	1:320	54	20,6
1:640 не исследовали						

Как видно из данных, приведенных в таблице, титр антител в ИФА выше, чем в РСК. Положительные серологические реакции в ИФА регистрировали при титрах антител 1:320, тогда как в РСК реакция была отрицательной уже при титре антител. Эти исследования подтвердили данные, полученные нами при исследовании сыворотки крови экспериментально зараженных анаплазмозом животных.

В литературе есть сообщения о применении ИФА для диагностики анаплазмоза рогатого скота (3-4).

Но наши исследования представляют интерес в сравнении различных параметров реакции для данной инвазии.

Обсуждение результатов ИФА вполне пригоден для использования в качестве диагностического теста при анаплазмозе. Титры антител, выявляемые в ИФА, были значительно выше нежели в РСК. Оптимальное разведение корпускулярного антигена для сенсibilизации полистироловых планшетов варьировало от 1:32, до 1:64, тогда как при использовании растворимого антигена титр достигал 1:256. Титр этого антигена в РСК составил 1:8.

Выводы Таким образом, при помощи ИФА можно решить главную задачу - многократно сократить расход антигена на одно исследование.

В наших опытах требовалось количество антигена в 32 раза меньше, чем в РСК.

По результатам проведенных исследований установлено, что иммуноферментный анализ (ИФА) является высокочувствительным, специфичным и простым в постановке методом диагностики анаплазмоза овец.

1. Степанова Н.И. Методы приготовления антигенов для диагностики кровопаразитарных болезней и изучение иммунологического состояния организма больных и переболевших животных. Тр.ВИЭВ, 1970, т.38, с.90-95.

2. Лысенко А.Я. с соавт. Реакция энзимеченных антител (РЭМА) в иммунодиагностике паразитарных болезней. Мед. паразитология и паразитарные болезни. М., Медицина, 1987, N 4, с.39-46.

3. Степанова Н.И. с соавт. Тезисы докладов Всесоюзного семинара - совещания «Опыт выращивания, нагула, откорма и профилактики болезней крупного рогатого скота в хозяйствах республик Средней Азии, Закавказья и Казахстана». Самарканд, 1983, с.71-72.

4. Хван М.В. Ананьев О.П., Сулейменов Т.Т. «Эффективность различных методов диагностики при экспериментальном анаплазмозе овец». Тезисы докладов и сообщений 4 съезда Всесоюзного общества протозоологов. г. Ленинград, 1987, с.37-38.

* * *

Иммуноферментті талдау әдісін қолданғанда бір рет зерттеуге кететін антиген мөлшері үнемделеді. Біздің тәжірибелерімізде аталған әдісті қолданғанда комплемент байланыстыратын реакцияға қарағанда зерттеуге кететін антиген мөлшері 32 есе аз болды. Жүргізілген зерттеу қорытындыларының нәтижесінде иммуноферментті талдау әдісі телімділігі мен сезімталдығы жоғары және қой анаплазмозын балауда қарапайым әдіс екендігі анықталды.

The consumption of antigen in ELISA less (32 times), than in CFT. ELISA is high sensitive test for diag-nostic of sheeps Anaplasmosis.

УДК: 619:616993.192.5:636.32/38/574

ДИАГНОСТИКА ПАЗАРИТОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В КАЗАХСТАНЕ

Сулейменов Т.Т.

Казахский национальный аграрный университет

Введение

По сообщениям ряда отечественных исследователей (1-3) анаплазмоз овец имеет широкое распространение в различных регионах Казахстана, вызывая большие потери мясошерстной продукции, нередко падеж животных или сдачу их на мясокомбинат в низких кондициях, снижение или прекращение половой функции баранов-производителей, недополучение приплода, тем самым нанося значительный экономический ущерб (4). Литературные сведения и