

РАЗРАБОТКА ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ БОРДЕТЕЛЛЁЗА

*Семанина Е.Н., Семанин Е.Г., Васильев Д.А., Васильева Ю.Б.
ФГОУ ВПО «Ульяновская государственная
сельскохозяйственная академия»*

Бордетеллез - высококонтагиозное, инфекционное заболевание собак и кошек, характеризующееся общим недомоганием, развитием острого воспалительного процесса слизистой оболочки респираторного тракта, сухим, болезненным кашлем, рвотой, прогрессирующим исхуданием и массовой гибелью животных.

Бактерии *Bordetella bronchiseptica* долгое время не уделялось должного внимания. Под вопросом была её патогенность. В настоящее время проблема бордетеллёза крайне актуальна, так как установлено, что *B. bronchiseptica* не только вызывает самостоятельное заболевание животных, но и передается от них человеку, вызывая патологию дыхательных путей (M.S.Dworkin, 1999).

Диагноз на бордетеллезную инфекцию устанавливают на основании комплексных клинико-эпизоотологических данных, результатов лабораторных исследований и при необходимости патологоанатомического заключения.

Существующие в настоящее время методы лабораторной диагностики бордетеллеза трудоёмки, длительны и дорогостоящи. Следовательно, актуальным направлением ветеринарной медицины мелких домашних животных является разработка современных, быстрых и точных методов выделения и идентификации возбудителя.

Целью нашей работы является рассмотрение различных методов лабораторной диагностики и поиск эффективных методов для определения и типирования *B. Bronchiseptica*.

Бактериологические методы - «золотой стандарт» микробиологической диагностики, так как результаты исследований позволяют точно установить факт наличия возбудителя в исследуемом материале. Идентификацию чистых культур (до вида микроорганизма) проводят с учётом морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, токсигенных и антигенных свойств микроорганизма. Большинство исследований включает определение чувствительности к антимикробным препаратам у выделенного возбудителя.

Самым большим недостатком метода является его длительность и трудоёмкость. Постановка диагноза на бордетеллёз занимает до 3-5 суток.

ПЦР (полимеразная цепная реакция) - метод позволяющий обнаружить на основе генетической информации возбудителя заболевания.

ПЦР – очень высокотехнологичный метод, требующий соблюдения строжайших правил оснащения лаборатории. Достаточно сказать, что в помещении должен быть установлен фильтр биологической очистки со степенью 99,9%. Это связано с тем, что в воздухе постоянно присутствует невероятный коктейль из фрагментов ДНК всевозможных живых организмов, и в процессе подготовки к проведению реакции образец может быть загрязнен — «ложное срабатывание».

Оценивать результаты ПЦР должен практический врач, который лечит конкретного больного. Дело в том, что далеко не всегда положительный ответ

ПЦР означает наличие заболевания. Следовательно, недостатки метода, связанные с тщательной подготовкой к исследованию, «человеческим фактором» и догровизной метода.

Твердофазный иммуоферментный анализ (ИФА) основан на использовании стандартных препаратов очищенных антигенов или антител, ковалентно связанных с ферментом. Эти препараты сохраняют и иммунологические свойства, и ферментативную активность, которую можно измерить при добавлении субстрата данного фермента.

Метод ИФА состоит из трех стадий:

1. На поверхности лунки планшета, сорбирован белок - антиген инфекционного агента или антитело к нему. В лунку вносится исследуемый биологический материал, чаще всего сыворотка крови больного. Если в ней содержится антитело к данному инфекционному агенту или антигены (сами инфекционные агенты), то они образуют иммунные комплексы “антиген-антитело” и остаются связанными при последующей промывке. На этом первая стадия заканчивается. Это основная — “специфическая” стадия процесса. Последующие стадии нужны лишь для выявления образовавшегося иммунного комплекса.

2. На второй стадии анализа в лунку вносят комплекс, состоящий из антитела и фермента (конъюгат), способный связываться с образовавшимися на первой стадии иммунными комплексами.

3. На следующей стадии в лунку добавляется раствор бесцветного вещества — хромогена. Это вещество приобретает окраску после расщепления его присутствующим в ячейке ферментом. То есть, если все элементы цепочки присутствуют, в лунке образуется окрашенный комплекс. Происшедшая цветовая реакция полностью пропорциональна предшествующей иммунологической, что позволяет выявить и количественно измерить в исследуемом биологическом материале искомый антиген или антитело.

По нашему мнению, разработка метода ИФА для постановки диагноза на бордетеллёз является актуальной, так как метод характеризует себя надежным, экономичным и высокочувствительным.

Фагодиагностика. В конце XIX — начале XX в. стало известно, что в природе существуют вирусы, которые поражают бактерии и при этом вызывают распад (лизис) их клеток. Эти вирусы получили название бактериофагов. Именно их стали использовать в диагностике инфекционных болезней, для установления рода и вида бактерий, выделенных в ходе бактериологических исследования.

Суть метода состоит в том, что бактериофаги обладают высокой специфичностью и способны вызывать лизис возбудителя только какого-либо конкретного заболевания. Данный метод еще пока мало изучен и поэтому применяется редко. В экономическом отношении метод достаточно дешев и высоко специфичен, а значит, имеет большие перспективы для постановки точного и своевременного диагноза на бордетеллёз.