

Лептоспира 4

Клинический и лабораторный анализ – II

Авторы: Франсиско Хавьер Гарсиа Пенья, руководитель отдела бактериологии, MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) - Министерство Сельского хозяйства, Продовольствия и Окружающей среды, Испания, и Лоренцо Фрайле, отделение животноводства, Государственный Университет Лериды, Испания.

www.msds-animal-health.ru

Диагностика лептоспироза свиней представляет собой сложную задачу. Наиболее широко используемые методы диагностики подразделяются на прямые и косвенные. Прямые методы направлены на выявление и/или идентификацию бактерий, а косвенные ориентированы на обнаружение антител к данным бактериям посредством серологических исследований.

ПРЯМЫЕ МЕТОДЫ

Такие исследования, как изоляция и идентификация бактерий *Leptospira*, их визуализация с использованием окрашивания серебром или темнопольной микроскопии, обнаружение их антигенов с помощью метода флуоресцирующих антител (МФА) или иммунопероксидазного анализа, выявление ДНК бактерий в тканях или биологической жидкости свиней, применяются к животным с клиническими признаками острого лептоспироза. Те же самые анализы тканей плода проводятся для диагностики абортов лептоспирозной этиологии.

1-Изоляция и идентификация агента

Изоляция и идентификация лептоспир в тканях позволяет точно диагностировать лептоспироз и определить инфицирующий серовар. Этот метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью для диагностики лептоспироза. Метод культивирования бактерий обычно доступен только в специализированных лабораториях, при этом он остается достаточно важным для эпидемиологических целей.

2-Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Метод ПЦР направлен на выявление либо различных генов, стандартно присутствующих в бактериях, либо генов, свойственных только патогенной бактерии *Leptospira*. Главным преимуществом метода ПЦР является возможность поставить диагноз на ранних стадиях заболевания, при этом отсутствует необходимость в наличии жизнеспособных лептоспир для получения положительного результата анализа. Наконец, достоверность результатов остается главным нерешенным вопросом метода ПЦР в диагностике лептоспироза животных.

3-Методы иммуоокрашивания

Метод флуоресцирующих антител (МФА) и иммунохимические тесты представляют собой анализы, используемые при исследовании образцов, взятых у плодов и мертворожденных поросят, так как в этом случае применение метода изоляции затруднительно. Кроме того, эти методы применяются, когда необходима экспресс-диагностика. Основным недостатком данных тестов является их зависимость от количества лептоспир в анализируемом образце. Таким образом, рассматриваемые методы бесполезны для диагностики случаев хронического заболевания, когда количество бактерий может быть очень низким.

4-Гистопатологическое исследование и темнопольная микроскопия

Преимуществом метода темнопольной микроскопии является возможность его использования на тканях, фиксированных в формалине. Такой метод служит полезным дополнением к гистопатологическому исследованию. В то же время гистологическим методам анализа не хватает чувствительности и специфичности для определения инфицирующего серовара. В свою очередь темнопольная микроскопия применяется в диагностике лептоспироза при исследовании мочи или внутренних жидкостей животного и плода. При этом данный анализ обладает низкой чувствительностью и специфичностью, так как многие элементы ткани могут быть ошибочно идентифицированы как лептоспиры.

КОСВЕННЫЕ МЕТОДЫ

Серологические тесты наиболее часто используются для постановки клинического диагноза. Несмотря на то, что описано большое количество серологических тестов, только реакция микроагглютинации (РМА) и иммуноферментный анализ (ИФА) обычно проводятся в ветеринарных лабораториях. Серология имеет диагностическую ценность у отдельных животных только в двух ситуациях. Во-первых, когда наблюдается острая фаза заболевания, и в парных образцах сыворотки, интервал которых составляет 14-21 день, обнаруживается сероконверсия. Во-вторых, когда антитела выявлены в крови и/или жидкости плевральной полости иммунокомпетентных плодов или в сыворотке крови поросят, не получивших молозива. В диагностике абортов у животных серологические тесты имеют ценность при инфекциях, вызванных случайными сероварами или сероваром ротона. Но в случае заражения сероваром tarassovi и главным образом адаптированными сероварами серогруппы australis диагностическая ценность серологических исследований не значительна.

1-Реакция микроагглютинации (РМА)

Метод РМА является стандартным серологическим тестом, который чаще всего проводится для диагностики лептоспироза. Уровень специфичности анализа достаточно высокий, учитывая то, что перекрестные реакции с антителами к другим бактериям обычно отсутствуют. При этом вакцинация и перекрестные реакции между сероварами и серогруппами бактерий *Leptospira* могут влиять на интерпретацию результатов РМА. Данный метод не может применяться для определения инфицирующего серовара при единичном заражении или заболевании всего стада. В свою очередь титры антител могут оставаться на значительном уровне на срок до двух месяцев после вакцинации, несмотря на наличие разных сероваров в вакцине.

2-Имуноферментный анализ (ИФА)

Метод ИФА, в котором в качестве маркера используются белок, имеет низкий уровень специфичности и позволяет обнаружить антитела ко всем патогенным лептоспирам. Для диагностирования заражений адаптированными сероварами чувствительность теста также очень низкая. Данный анализ более ценен для диагностики заражений неадаптированными сероварами. ИФА, в котором маркером служат липополисахариды (ЛПС), специфичен в отношении серогрупп и полезен для эпидемиологических исследований. Главным недостатком этого анализа выступает то, что его чувствительность может быть менее 50% в основном при заражении сероваром Bratislava. Как и РМА, иммуноферментный анализ не позволяет отличить инфицированного животного от вакцинированного.