

УДОСКОНАЛЕННЯ ЕКСПРЕС-МЕТОДУ ДІАГНОСТИКИ ПРИ ХЛАМІДІОЗІ

Данілова І.С.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» м. Харків

Хламідіоз (бедсоніоз, гальпровіоз, міягаванеліоз) – хронічна інфекція багатьох видів тварин і птахів, яка може протікати в декількох клінічних формах: генітальній (репродуктивній), респіраторній, нервовій і змішаній. Існує 2 роди хламідій: *Chlamidia*, до якого відносяться *C. trachomatis*, *C. suis*, *C. miridarume* та *Chlamydophila*, до якого належать такі види як *C. pneumonia*, *C. pecorum*, *C. abortus*, *C. psittaci*, *C. caviae*, *C. felis*. [1].

Значну питому вагу хламідіозів у патології людини і тварин визначає необхідність розробки й удосконалення методів діагностики даних захворювань. Вирішальне значення у виявленні хламідійних інфекцій мають методи їх лабораторної діагностики [3, 4].

Лабораторна діагностика ґрунтується на прямому виявленні збудника або його антигенів і антитіл до нього, а також серологічних даних. Матеріал для досліджень відбирають у залежності від форми хвороби.

Одним із методів лабораторної діагностики, а саме експрес-методу, є бактеріологічний. Це попереднє мікроскопічне дослідження матеріалу, виділення збудника і його ідентифікація [2]. Попереднє дослідження полягає в бактеріоскопії з метою виявлення хламідій в інфікованих клітинах або за допомогою імуофлуоресценції, фазово-контрастної оптики, фарбування за Романовським-Гімзою та Стемпом [5].

Матеріали і методи. Для дослідження було використано патологічний матеріал від вівцематок (вміст матки, селезінки, лімфовузлів), предметні скельця, стерильні епіндорфи, бактеріологічна петля, фарфорові ступки.

Асептично в стерильні епіндорфи відбирали шматочки патологічного матеріалу від вівцематок і паралельно досліджували на наявність ДНК хламідій.

Дослідження ПЛР проводились в лабораторії епізоотології і молекулярної діагностики ННЦ «ІЕКВМ». Ізоляцію сумарної ДНК проводили за допомогою комерційного набору для екстракції ДНК «ДНК-сорб В». Реакцію ампліфікації здійснювали базовими наборами АмпліСенс (Російська Федерація) та системи праймерів СНОМР_191/371. Шляхом використання набору для електрофорезу виробництва НВО Нарвак (Російська Федерація), проводили електрофоретичний аналіз. Концентрація агарози в гелі 1 %, при 120 В.

Після забору матеріал розтирали у фарфоровій ступці зі стерильним піском і центрифугували на центрифугу при 1000 об./хв., протягом 10 хвилин.

Надосадкову рідину відбирали і знову центрифугували на ультрацентрифугу «MiniSpin» за 13000 об./хв. протягом 10 хвилин. З осаду робили мазки на фізіологічному розчині у співвідношенні 1:1 та фарбували за методом Романовського-Гімза та Стемпом і досліджували під масляною імерсією мікроскопу «Zeiss» виробництва Німеччина.

Результати досліджень і обговорення. За результатами експрес-методу діагностики на хламідіоз, а саме бактеріоскопію матеріалу з центрифугуванням його за 13000 об./хв. було виявлено елементарні тілця хламідій в патологічному матеріалі, взятому від вівцематок з господарства. Про це свідчать наші результати при мікроскопії мазків, пофарбованих за методом Романовського-Гімза, який є класичним методом офарблення хламідій (рис. 1 та рис.2).

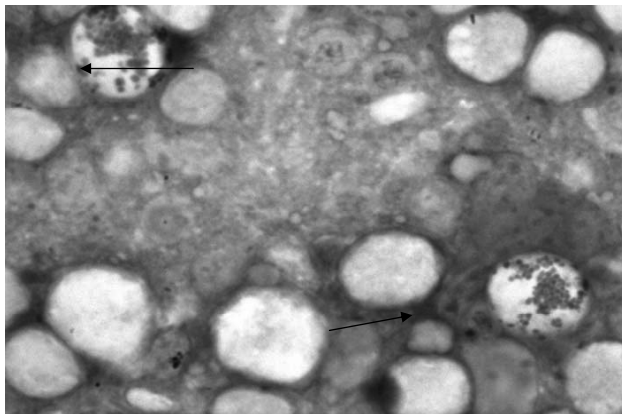


Рис. 1 Мазок-відбиток з патологічного матеріалу від вівцематки № 1

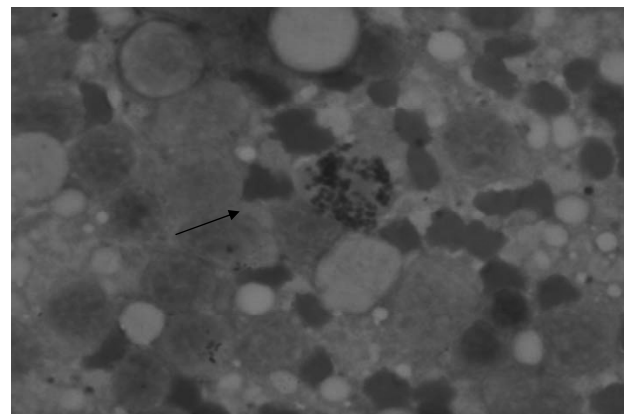


Рис. 2 Мазок-відбиток з патологічного матеріалу від вівцематки № 2

З рисунків 1 та 2 видно накопичення в патологічному матеріалі дрібних елементарних тілець хламідій, сферичної форми, червоного кольору (збільшення 90Ч5), які розташовувалися скупченнями у вакуолях на фіолетовому фоні клітин. Вивчення препаратів, пофарбованих за методом Романовського-Гімза, окрім виявлення хламідій, дозволяє отримати додаткові бактеріоскопічні дані про характер супутньої бактерійної флори, якої при наших дослідженнях ми не спостерігали.

Паралельно проводили дослідження матеріалу від вівцематок у ПЛР, щодо наявності ДНК хламідій. Результати наведені на рисунку 3.

При дослідженні матеріалу у ПЛР від вівцематки №1, крові від неї та крові від вівцематки №2 ДНК хламідій не виявлено, а при дослідженні патологічного матеріалу від вівцематки №2 було виявлено ДНК хламідій. Це дає змогу використовувати експрес-метод діагностики хламідіозу, як попередній метод виявлення хламідій.

Шляхом бактеріоскопії ми вивчали морфологію, тинкторіальні властивості та локалізацію елементарних тілець хламідій. Тому виявлення їх у патологічному матеріалі хворих або загинув тварин, за нашими даними, має діагностичне значення.

Перевагою експрес-діагностики хламідіозу є швидкість одержання результатів (протягом 1 години після доставки матеріалу в лабораторію), простота і доступність техніки виконання.

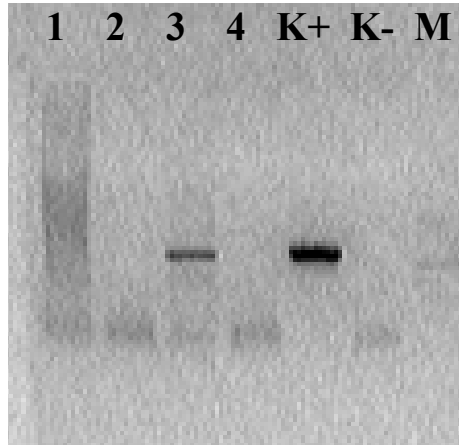


Рис. 3 Результати електрофореграми досліджень зразків патологічного матеріалу за допомогою ПЛР щодо наявності ДНК хламідій.

Позначення:

1. Зразок патологічного матеріалу від вівцематки №1;
 2. Кров від вівцематки №1;
 3. Зразок патологічного матеріалу від вівцематки №2;
 4. Кров від вівцематки №2;
- K+ Хламідійний антиген;
K- Негативний зразок;
M -Маркер молекулярної маси.

Висновки. Таким чином, проведені нами дослідження на хламідіоз експрес-методом свідчать про наявність елементарних тілець хламідій в мазках з патологічного матеріалу від вівцематок.

Випробуваний метод дає можливість вивчити морфологію мазка та отримати уявлення про будову та локалізацію хламідій. Це досягається застосуванням спеціальних методів забарвлення. При мікроскопії можливо визначити форму мікроорганізму, його розташування, розмір, відношення до методів фарбування.

Список літератури

1. Бортничук, В.А. Хламидиоз свиней [Текст] – К.: Урожай, 1991 – 191 с. 2. Терских, И.И. Орнитоз и другие хламидийные инфекции [Текст] – М.: Медицина, 1979 – 229 с. 3. Самуйленко, А.Я. и др. Инфекционная патология животных [Текст] // Хламидиозы. – Москва. – 2003. – Т.V. – С. 4-40.
4. Настанова із лабораторної діагностики хламідійної інфекції сільськогосподарських тварин [Текст]: Затверджено Головою Державного департаменту вет. медицини від 20 грудня 2006 р. – 44 с. 5. Головки, А.Н. Микробиологические и вирусологические методы исследований в ветеринарной медицине [Текст]: справ. пособие/А. Н. Головки [и др.], - 2007.- X. «НТМТ». – С. 229-231.

IMPROVEMENT THE EXPRESS - METHOD OF DIAGNOSTICS AT CHLAMIDIOSIS

Danilova I.S.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine» Kharkiv, Ukraine

New data concerning the results of the new method of Chlamidiosis diagnostics is presented in the paper. There has been improved biomaterial selection at bacteriological researches with the subsequent concentration and centrifugation (at 13000 revolutions per minute) of the material.

УДК 614.48:619

БАКТЕРИЦИДНА ДІЯ МИЙНОГО ЗАСОБУ «CHRISAL CMF-240» ЩОДО *E. COLI*

Дегтярьов І.М.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

У світі компанії з виготовлення мийних засобів намагаються налагодити виробництво таких препаратів, які відповідають сучасним вимогам безпеки та мають комплексну дію щодо збудників харчових токсикоінфекцій [1, 2].

Відомо, що на підприємствах, а також місцях виготовлення та реалізації харчових продуктів і сировини тваринного походження при проведенні бактеріологічних досліджень виникає багато проблем щодо якості миття та дезінфекції, внаслідок чого постає питання вибору доступного і надійного мийного засобу [1, 3, 4].

У наш час існує велика кількість таких засобів, але не всі володіють бактерицидними властивостями щодо групи бактерій кишкової палички та мають високий рівень безпечності для людей і навколишнього середовища [4, 5].

Тому пошук високоєфективних, безпечних і дешевих дезінфектантів є актуальною проблемою сьогодення.

Мета роботи. Метою наших досліджень було визначення бактерицидних властивостей щодо *E. coli* мийного засобу на основі органічних солей CMF-240, розрахунок оптимальної концентрації та експозиції застосування препарату.

Матеріали та методи. У досліджах використовували мийний концентрат «Chrisal CMF-240», вироблений у Бельгії. Розведення препарату