

УДК 619:616.98:579.882.11:616-078:616-084:636

АСПЕКТИ ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ХЛАМІДІОЗІВ ТВАРИН (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Ісаков М.М.¹

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail:admin@vet.kharkov.ua

У статті наведені літературні дані щодо сучасних методів діагностики та профілактики хламідіозу сільськогосподарських тварин. Так, описані методи підготовки, обробки та умови транспортування патологічного матеріалу для дослідження. Проаналізовано у порівняльному аспекті цінність РЗК та ІФА. Зазначені методи виявлення хламідій, зокрема молекулярно-біологічні методи (ПЛР), які дозволяють діагностувати хламідійну інфекцію на ранніх стадіях інфекційного процесу. Показана роль основних профілактичних заходів, що включає застосування вакцинних препаратів і дотримання ветеринарно-санітарних правил при експлуатації тварин, описані заходи щодо ліквідації проміжних господарів (гризунів, ектопаразитів) збудника хламідіозу.

Ключові слова: хламідіоз тварин, діагностика, профілактика, епізоотологія.

Хламідіоз – це інфекційне захворювання тварин і людини, яке в залежності від локалізації збудника, може вражати всі системи та органи, внаслідок чого інфекція не має типової клінічної картини та найчастіше за все може ускладнюватися супутніми захворюваннями, при цьому будучи основним етіологічним агентом. У більшості випадків інфіковані тварини залишаються хламідієносіями пожиттєво [1, 2, 3].

На сьогоднішній день в Україні відсутні вітчизняні та вірогідні методи лабораторної діагностики, засоби специфічної профілактики, а також недостатньо опрацьовані ефективні схеми лікування хламідіозу, що сприяє його розповсюдженню серед сільськогосподарських тварин [2, 3].

Складна епізоотична ситуація з хламідіозу ВРХ склалася у Харківській області. У господарствах регіону щорічно реєструють респіраторні захворювання змішаної вірус-бактеріальної етіології у 70–100 % телят [1, 12].

При діагностиці хламідіозу сільськогосподарських тварин у лабораторіях ветеринарної медицини керуються «Настановою із лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин» (затв. Міністерством аграрної політики України від 20 грудня 2006 р.).

Усі методи діагностики хламідіозу можна умовно розділити на дві групи: прямі методи (безпосереднє виявлення збудника) і непрямі методи, які спрямовані на визначення наявності антитіл у сироватці крові.

Важливою складовою успішної діагностики є кваліфікована та своєчасна доставка патматеріалу до лабораторії. Строк транспортування не повинен перевищувати 24 годин. Матеріал відбирають не пізніше, ніж через 2 години після загибелі тварини і вносять до середовища, яке представляє собою збалансований сольовий розчин (рН 7,2–7,4) з білковим стабілізатором, вуглеводними компонентами та амінокислотами [2, 3]. З метою уникнення контамінації іншими бактеріями середовище повинне вміщувати антимікробні та фунгіцидні компоненти. Зберігання зразків у такому середовищі допускається у діапазоні температур від мінус 20 до мінус 70 °С.

Для дослідження на хламідійну інфекцію до лабораторії направляють патологічний матеріал (шматочки уражених легень, паренхіматозних органів і головного мозку, лімфатичні вузли та ін.), від тварин, які абортували – ділянки плаценти із геморагічними інфільтратами, аборт-плоди, а також проби еякулята чи консервованої сперми бугаїв-плідників. Кров від тварин, які абортували або підозрілі на захворювання, беруть двічі з інтервалом 2–4 тижні (парні зразки).

З метою ізолювання та культивування хламідій з патологічного матеріалу готують 10–20 % суспензію з додаванням антибіотиків. Для ретроспективної діагностики та імунологічних методів відбирають сироватки крові у кількості 2–3 см³. Зразки сироватки при дослідженні, які містять осад, необхідно освітлювати центрифугуванням. Умови зберігання сироваток – від 2 до 6 °С протягом трьох діб [2, 3, 4, 5]. Якщо немає можливості провести дослідження у зазначений термін, зразки необхідно заморозити. Повторне заморожування зразків не допускається. Гемоліз і бактеріальний проріст роблять сироватки непридатними для аналізу [3, 4].

Одним з основних чинників розповсюдження хламідіозу ВРХ є бугаї-плідники, тому треба приділяти особливу увагу контролю контамінації генетичних ресурсів. Від кожного бугая-плідника відбирають 0,5 мл нативної сперми в розведенні 1:10–1:20. Також використовують еквівалентний об'єм криоконсервованої сперми (5 необлямованих гранул або пайєтів) [5].

Завдяки високій чутливості та специфічності серологічним методам надають перевагу перед іншими методами діагностики. Слід пояснити, що дослідження у серологічних тестах сироваток крові підозрюваних на захворювання тварин носять попередній характер («імунологічний скринінг»),

¹Науковий керівник – д. вет. н. Герілович А.П.

яке дозволяє припустити наявність циркуляції у стаді збудника хламідіозу та є передумовою для наступних досліджень з підтвердження діагнозу іншими, більш точними методами [1, 4].

На даний момент, не дивлячись на невисоку ефективність, для серологічної діагностики хламідіозу тварин використовують реакцію зв'язування комплементу (РЗК), оскільки інші методи, наприклад ІФА, хоча й розроблені, але на сьогодні не представлені на ринку України у ветеринарній медицині серед вітчизняних тест-систем [5, 6].

За даними Міланко О.О. та Авраменко Н.О. (2010 рік), серед 149 сироваток крові корів і телят з двох неблагополучних щодо хламідіозу великої рогатої худоби господарств у РЗК позитивними виявили 42 (28,1 %), а в ІФА – 64 (42,9 %). Таким чином, за допомогою ІФА було виявлено на 14,8 % більше хворих тварин, ніж у РЗК. Характерним є те, що сироватки крові, які позитивно реагували з хламідійним антигеном у РЗК, як правило, давали позитивну реакцію в ІФА [6, 12].

За даними інших авторів, при дослідженні 963 проб сироваток крові ВРХ з 41 неблагополучного господарства методом РЗК позитивними виявили 172 проби, що становить 17,8 %. При дослідженні аналогічних проб сироваток крові в ІФА позитивна реакція була зареєстрована в 234 пробах (24,9 %). Зіставлення результатів двох тестів показало, що за допомогою ІФА було виявлено у 1,4 рази більше серопозитивних тварин, ніж у РЗК [7]. Не зважаючи на те, що основним діагностичним методом визначено серологічні дослідження, а саме найбільш вживану РЗК для діагностики даного захворювання, деякі вчені рекомендують проводити скринінг на хламідійну інфекцію у господарствах і фермах із залученням ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції), ІФА чи РІФ, так як вони є більш чутливими та специфічними [1, 10, 13].

Деякі автори вважають, що діагностичним критерієм при хламідіозі є виявлення цитоплазматичних включень (елементарних тілець) у зразках біо- та патматеріалу (рис. 1), а також у грудному та черевному ексудаті, паренхіматозних органах мурчаків і курячих ембріонів (рис. 2) (мазки з жовткової оболонки) при постановці біологічної проби [7, 8].

Збудник може бути ізолюваний в культурі клітин (Рис. 3). Чутливість культурального методу в порівнянні з ПЛР становить менше 70–80 %, однак перевершує молекулярно-генетичні методи за специфічністю [9].

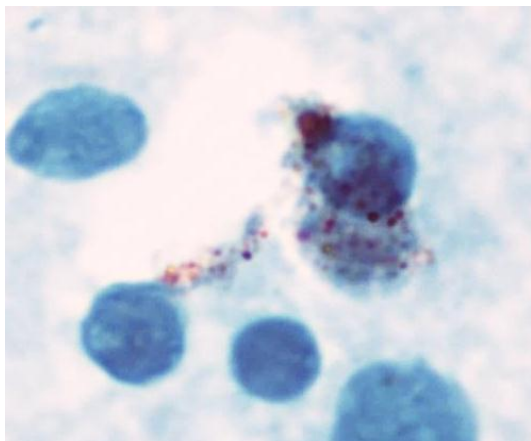


Рис. 1 Мазок-відбиток з легенів загиблого поросяти, пофарбовано за Макіавело, зб. x100



Рис. 2 Курячі ембріони (контрольний та незаражений ізолятом хламідії) на 9-у добу після інфікування

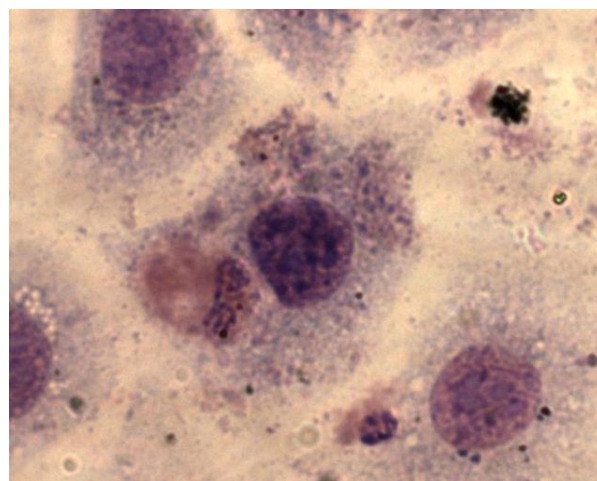


Рис. 3 Культура клітин McCoy, інфікована ізолятом V.Olexandrivka\11, зб. x100

Культуральний метод має свої недоліки: високий ризик інфікування персоналу, значні витрати часу та коштів, одноразовий негативний результат при культивуванні не виключає наявності інфекції. Посилений курс антибіотикотерапії може зумовлювати псевдонегативні результати.

Найбільш чутливим з прямих методів виявлення хламідії є ПЛР, бо цей метод не потребує імунологічної відповіді на проникнення збудника в організм тварини. За допомогою цього методу можна діагностувати хламідійну інфекцію на ранній стадії, коли репродукція збудника хламідіозу лише починається [10, 11]. В основі ПЛР (рис. 4) лежить ампліфікація специфічної ділянки нуклеотидної послідовності. Цей метод все ширше застосовується у різних модифікаціях для діагностики хламідійних інфекцій у практиці ветеринарної медицини всього світу.

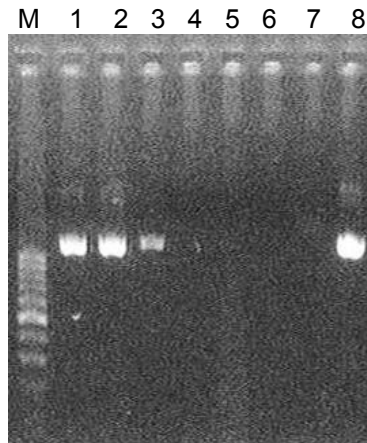


Рис. 4 Електрофореграма продуктів ампліфікації специфічної ділянки хламідій розміром 1280 п.н.; М – маркер; 1,2,3,4,5,6 – зразки легенів, середостінних лімфатичних вузлів, нирки, селезінки, печінки; 7 – негативний зразок; 8 – позитивний зразок.

Існує чимало варіантів постановки ПЛР, які можуть стосуватись як в цілому методу, так й окремих його етапів. Великої уваги потребує підготовка зразків, яка включає виділення ДНК. На цей час запропоновано чимало методів екстракції нуклеїнових кислот. Наприклад виділення ДНК за допомогою гуанідінізоціанату або реагенту «Chelex-100» [10].

Існує спосіб визначення ДНК збудників хламідійних інфекцій у мультиплексній ПЛР, яка дозволяє виявляти збудників хламідійних інфекцій тварин і птахів з диференціацією до виду. Запропонований метод визначення має наступні переваги: підвищення інформативності визначення хламідійних інфекцій (з 1 до 6), значне зниження затрат часу та реактивів [2, 15, 16].

У випадку недостатньої концентрації збудника хвороби, при якій звичайна ПЛР не здатна виявити його у дослідному матеріалі, часто використовують таку модифікацію як Nested-ПЛР. Цей метод передбачає використання кількох пар праймерів. Велику увагу в розробці нових модифікацій ПЛР тест-систем для діагностики хламідіозу приділяють і в гуманній медицині. Так вченими «Інституту дерматології та венерології АМН України» (м. Харків) було зроблено порівняння розробленого ними напівгніздового методу ПЛР-діагностики *S. trachomatis* з тест-системою для ПЛР-діагностики хламідіозу «Амплиценс *S. trachomatis-EPh*» («Интерлабсервис», РФ). З 62 випадково відібраних зразків система виявила 35 позитивних, а за допомогою набору «Амплиценс *Cl. trachomatis-EPh*» було виявлено 19 позитивних зразків, не було жодного зразка, який би дав негативний результат з розробленою системою та позитивний – з системою «АплиСенс». Таким чином, розроблена система виявила майже у два рази більше позитивних проб, ніж «Амплиценс» [9].

Профілактика хламідіозу передбачає чітке дотримання ветеринарно-санітарних і зоогігієнічних правил під час комплектування стад і забезпечення процедури відтворення сільськогосподарських тварин [4, 8].

Діючою «Інструкцією щодо заходів з профілактики і боротьби з хламідіозом сільськогосподарських тварин» (затв. Державним департаментом ветеринарної медицини № 142 від 21.12.2004) передбачено обстеження двічі на рік плідників і придбаних тварин під час їх перебування на карантині [4].

У першу чергу при профілактиці хламідіозу тварин треба дотримуватися ветеринарно-санітарних правил утримання та експлуатації тварин. По-перше, усі господарства повинні мати постійно діючий дезбар'єр з санпропускником. Робітники тваринництва повинні ретельно дотримуватись правил особистої гігієни, усі тварини, які поступають у господарство, повинні підлягати обов'язковому 30-добовому карантину з проведенням періодичного клінічного огляду та вибіркової термометрії [5, 13].

Бугаїв-плідників племінних підприємств і господарств будь якої форми власності досліджують на хламідіоз, серологічно двічі на рік, також забороняється комплектувати такі господарства тваринами, які були вакциновані проти хламідіозу. Вакцинованих тварин серологічно не досліджують. У господарствах повинні впроваджуватися заходи щодо ліквідації проміжних господарів (гризунів,

ектопаразитів). При підозрі на хламідіоз необхідно проводити епізоотичні та лабораторні методи досліджень для уточнення діагнозу.

У разі виникнення підозри на хламідіоз (аборти, мертвонародження, орхіти, зниження якості сперми у плідників, безпліддя та інше) оперативно проводять уточнення діагнозу з використанням епізоотологічних і лабораторних методів досліджень [11].

Для сільгоспприємств, що є об'єктами племінної справи, необхідно регулярно (щонайменше один раз на рік) проводити лабораторні дослідження на хламідіоз в ПЛР клінічних зразків від усіх плідників та не менше ніж 20 % репродуктивних самиць [3, 4, 9].

Навіть у випадках своєчасної та ефективної діагностики хламідіозу тварин у рамках боротьби з інфекцією встає питання про вибір активного та специфічного імунобіологічного препарату для профілактики захворювання. Деякі вакцини препарати є тканинними та виготовляються з використанням курячих ембріонів, а тому містять значну кількість баластних речовин [10].

За даними закордонних дослідників щодо ефективності культуральної інактивованої вакцини проти хламідіозу ВРХ зроблено висновок про те, що вакцина є нешкідливим, слабкоректогенним препаратом та обумовлює значну індукцію специфічних протихламідійних антитіл [11]. Проте, за деякими літературними даними, вакцинопрофілактика хламідіозу тварин не має місця у системі заходів оздоровлення від даного захворювання [5, 8].

Отже, проведений літературний аналіз показав, що необхідно інтенсифікувати роботу у напрямку розробки більш чутливих і специфічних тест-систем для ефективної діагностики хламідіозів сільськогосподарських тварин. Систему профілактики цієї інфекції необхідно посилити за рахунок розробки дієвих нових вакцинних і профілактичних препаратів.

Висновки. Літературні дані свідчать про широке розповсюдження хламідійної інфекції серед тварин і людей у всьому світі. Найбільш чутливим з прямих методів виявлення хламідій є ПЛР. Поряд з цим важливим елементом лабораторної діагностики є застосування серологічних методів досліджень (РЗК та ІФА). При порівнянні цих методів, ІФА виявився більш чутливим та специфічним тестом. Профілактичні заходи включають застосування вакцинних препаратів. Однією з основних причин розповсюдження хламідійної інфекції є контаміновані генетичні ресурси, тому необхідно посилити контроль у цьому напрямку. Також велику роль у профілактиці хламідіозів тварин відіграє дотримання ветеринарно-санітарних правил при утриманні тварин.

Список літератури

1. Банузи, Б.А.С. Анализ результатов серологических и вирусологических исследований крупного рогатого скота на хламидиоз в ветеринарных лабораториях республики Татарстан [Текст] / Б.А.С. Банузи, Равилов Р.Х. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана – 2011. – С. 12 – 48.
2. Герілович, А.П. Молекулярно-генетичні методи діагностики у ветеринарній медицині та біотехнології [Текст] / А.П. Герілович, Б.Т. Стегній, А.І. Завгородній // Київ: СТ-Друк, 2014.-285 С.
3. Евстифеев, В.В. Применение иммуноферментного анализа для диагностики хламидиоза КРС [Текст] / В.В. Евстифеев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010. - № 200. – С. 69 – 72.
4. Інструкція щодо заходів з профілактики та боротьби з хламідіозом сільськогосподарських тварин [Текст]: Наказ державного департаменту ветеринарної медицини 21.12.2004 № 142. – Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 27 грудня 2004 р. за №1652\10251.
5. Ксьонз, І.М. Проблеми та перспективи максимального викорінення хламідіозу сільськогосподарських тварин [Текст] / І.М. Ксьонз // Ветеринарна медицина України. – 2010.- № 10. – С. 27 – 28.
6. Караваев, Ю.Д. Диагностика, профилактика и меры борьбы с хламидиозами животных [Текст] / Ю.Д. Караваев // Ветеринария. – 1999. - №2. – С. 28 – 30.
7. Касич, В.Ю. Хламидиоз животных: этиология, распространение на северо-востоке Украины, средства специфической профилактики [Текст] / В.Ю. Касич, Т.И.Фотина // Вісник СНАУ. – 2010. - № 3. – С. 89 – 98.
8. Ксьонз, І.М. Хламідіози тварин [Текст]: монографія / І.М. Ксьонз. – Полтава: Оріяна, 2012 – 318 с.
9. Литовченко, О.А. Анализ применения полугнездного метода ПЦР-диагностики *Chlamydia trachomatis* [Текст] / О.А. Литовченко.
10. Міланко, О.О. Клініко-епізоотологічні аспекти хламідіозу великої рогатої худоби [Текст] / О.О. Міланко, Н.О. Авраменко // Вісник СНАУ. – 2010. - № 3. – С. 105 – 108.
11. Обухов, І.Л. Методи прямого обнаружения хламидий при орнитозе [Текст] / І.Л. Обухов // Ветеринария. – 1998. - № 9. – С. 22 – 24.
12. Хамадаев, Р.Х. Вакцина против хламидиоза крупного рогатого скота [Текст] / Р.Х. Хамадаев, Ф.М. Хусаинов // Ветеринария 1996. - №6. – С.22 -23.
13. Хусаинов, Ф.М. Изучение набора диагностикомов для иммуноферментного анализа при хламидиозе свиней [Текст] / Ф.М. Хусаинов, В.В. Евстифеев // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию ФГУП «Шелковский биокombинат». «Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее». – 2004. – С.157 – 158.
14. Хамадаев, Р.Х. Вакцина против хламидиоза крупного рогатого скота [Текст] / Р.Х. Хамадаев, Ф.М. Хусаинов // Ветеринария 1996.- № 6. – С. 22-23.
15. Kaltenboeck, B. Evidence for numerous omp1 alleles of porcine *Chlamydia trachomatis* and novel Chlamydial species obtained by PCR [Text] / B. Kaltenboeck, N. Chmeier // Clin Microbiol. – 1997. – Vol. 35 – P.1835 – 1841.
16. Sachse, K. More than classical *Chlamydia psittaci* in urban pigeons [Text] / K. Sachse // Vet. Microbiol. – 2012. – Vol.157 – P.476 – 480.

ASPECTS OF DIAGNOSIS AND PREVENTION OF CHLAMYDIA INFECTION IN THE ANIMALS
(LITERATURE REVIEW)

Isakov M. M.

National scientific center «Institute of experimental and clinical veterinary medicine», Kharkov

The article contains summarizing information about actual methods of diagnostics and prevention of chlamydia infection in animals. The methods of preparation, processing and transportation of pathological material terms of the diagnosis of chlamydial infection of animals were described. There is comparison of the diagnostic value of CFT and ELISA. It also contains data of chlamydia growth and pathogen detection by molecular biology research methods that can provide diagnostics of chlamydia infection in the early stages of infection. The role of basic preventive measures, including the use of vaccine preparations and compliance with veterinary and sanitary regulations for animal exploitation described measures to eliminate intermediate hosts (rodents ectoparasites) pathogen.

Key words: animal chlamydiosis, diagnostics, prevention, epidemiology.

УДК 619:579.873.21:615.331

ТУБЕРКУЛОЦИДНІ ВЛАСТИВОСТІ ДЕЗІНФЕКТАНТІВ ЗАКОРДОННОГО
ТА ВІТЧИЗНЯНОГО ВИРОБНИЦТВА

Палій А.П., Завгородній А.І., Стегній Б.Т.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», м. Харків, e-mail: paliy.tub@mail.ru

Мандигра Ю.М.

Рівненська дослідна станція Інституту ветеринарної медицини НААН, м. Рівне

У результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що препарат «Віроцид» знищує збудника туберкульозу M. bovis у концентрації 2,0 % за експозиції 24 год., дезінфектант «Віркон С» викликає девіталізацію даного збудника у концентрації 4,0 % за експозиції 24 год., а препарати «ДЗПТ-1» та «ДЗПТ-2» – у концентрації 3,0 % та 2,0 % за діючою речовиною відповідно за експозиції 5 год.

Ключові слова: дезінфектант, концентрація, експозиція, бактерицидна дія, атипіві мікобактерії, збудник туберкульозу M. bovis.

Серед інфекційних захворювань туберкульоз займає особливе соціальне положення. Він завдає значних економічних збитків тваринництву та є постійною загрозою для здоров'я людей. У зв'язку з цим заходи, спрямовані на профілактику та ліквідацію цього захворювання, мають носити всебічний характер. У переважній більшості важливу роль у виникненні повторних спалахів у раніше оздоровлених господарствах і нових вогнищах туберкульозу відіграють фактори передачі збудника, якими є об'єкти зовнішнього середовища [1].

Для знешкодження мікобактерій у довкіллі запропоновано різноманітні засоби, проте більшість з них не знищують дані мікроорганізми в наслідок високої резистентності останніх, а діють лише бактериостатично [2].

Проведеними Н.І. Єремєєвою порівняльними дослідженнями з визначення чутливості дев'яти штамів патогенних і сапрофітних мікобактерій до ряду дезінфікуючих засобів встановлено, що вивчаємі культури мікроорганізмів проявляють не однакову стійкість не лише до різних видів деззасобів, але й до одного і того ж препарату. Поряд з цим доведено, що зазначені туберкулоцидні режими деяких дезінфектантів, що рекомендовані відповідними інструкціями по їх застосуванню, у ряді випадків є недостатніми для проведення дезінфекції по відношенню до музейних і клінічних штамів мікобактерій, особливо при високому мікробному навантаженні на тест-об'єкти [3].

За останній час перелік деззасобів, що проявляють бактерицидні властивості щодо мікобактерій дещо поповнився, але все ще залишається недостатнім і вимагає систематичного оновлення асортименту пропонованих препаратів [4].

Всебічний аналіз показує, що успіх боротьби з туберкульозом сільськогосподарських тварин залежить від багатьох причин й факторів і, особливо, від рівня санітарного стану тваринницьких ферм, знезараження гною, якісної обробки об'єктів ветеринарного нагляду та довілля утримання тварин високоефективними дезінфікуючими препаратами.

Враховуючи вище зазначене **метою** наших досліджень було вивчення бактерицидних властивостей дезінфікуючих препаратів щодо мікобактерій.

Матеріали та методи. Вивчали бактерицидні властивості препаратів:

– «Віроцид» (Cid Lines N.V./S.A., Бельгія) у концентрації 0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 1,0 %, 2,0 % водних розчинів за експозиції 1, 3, 5, 24, 48 год.