

УДК 619:616.15:579.882:636.4

© 2010

Тимошенко О.П., доктор біологічних наук
Харківська державна зооветеринарна академія

Скрипка М.В., кандидат ветеринарних наук
Полтавська державна аграрна академія

Пальчик В.В., лікар ветеринарної медицини
Полтавська міська державна лікарня ветмедицини

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ХЛАМІДІОЗУ СВИНЕЙ

Рецензент – кандидат ветеринарних наук С.Б. Передера

Проведена лабораторна діагностика хламідіозу свиней вказує на окремі особливості результатів різних методів досліджень. Так, РЗК є малоінформативною; ідентифікація збудника в мазках-відбитках та за допомогою ПЛР не в усіх випадках дослідження різних ділянок одного органа є позитивним внаслідок розташування хламідій у вигляді окремих скупчень. При постановці біопроби у тварин на 8-11 добу після первинного зараження в мазках-відбитках виявляються тільки хламідій, а на 25-ту добу після зараження спостерігаються специфічні зміни у внутрішніх органах.

Ключові слова: хламідіоз, свині, ПЛР, мазки-відбитки, біопроба.

Постановка проблеми. Діагноз на хламідіоз встановлюють на підставі клініко-епізоотологічних показників, патолого-анатомічних змін та даних лабораторних досліджень, до складу яких входять: виявлення хламідій у патологічному матеріалі шляхом звичайної мікроскопії або в реакції імунофлуоресценції, виділення збудника на курячих ембріонах та по наростанню титрів специфічних антитіл у сироватці крові тварин у серологічних реакціях (РЗК, РНГА, ІФА та ін.).

Аналіз досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання даної проблеми. Окремими авторами при проведенні серологічних досліджень відзначалося, що РЗК у більшості випадків дає негативний результат або має досить низьку чутливість. Це пояснюється тим, що на певній стадії інфекційного процесу організм свиней, деяких видів птиці, а також людини продукує так звані неповні (інгібіторні) антитіла, що мають властивість блокувати хламідійний антиген без зв'язування комплекменту. Методи діагностики базуються на даних епізоотичної ситуації господарства, клінічних ознаках хвороби, патоморфологічних змінах та лабораторних

методах дослідження. Останні мають вирішальне значення при виявленні хламідійної інфекції. Існує чимало методів лабораторної діагностики, які беруть свій початок із минулого століття. Окрім того з'явилися й більш сучасні, але єдиної думки щодо їх чутливості немає [2-6].

Мета і завдання дослідження. За результатом проведеної лабораторної діагностики порівняти чутливість різних методів досліджень хламідійної інфекції свиней.

Матеріали і методи досліджень. Нами було застосовано РЗК, виготовлення й фарбування мазків-відбитків, біопробу на білих мишах, зараження курячих ембріонів, ПЛР. Для постановки ПЛР, біологічної проби на білих мишах, зараження курячих ембріонів та виготовлення й фарбування мазків-відбитків використовувалися зішкреби зі слизових оболонок носових ходів і прямої кишки, 20% суспензії внутрішніх органів спонтанно хворих свиней різних статевих-вікових груп, 20% суспензії органів абортіваних плодів та їх плацент. Дослідження проводилися згідно з настановою із лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин [1].

Результати досліджень. Враховуючи той факт, що практично в усіх випадках, коли нижче перерахованими лабораторними методами досліджень (дослідження мазків-відбитків, біопроба на білих мишах, на курячих ембріонах, ПЛР) виділяли збудника хламідіозу, результати РЗК були негативними.

У мазках-відбитках, виготовлених із легень, селезінки, печінки, нирок та серця, забарвлених за Романовським-Гімзою, цитоплазма клітин набуває блакитного кольору, ядра – фіолетово-синього, а хламідії мають темно-синє забарвлення (стадія елементарних тілець) або рожевий колір (стадія ретикулярних тілець). При забарвленні за Стемпом на зеленуватому фоні препарату виявляються червоно-фіолетові дрібні утворен-

ня, що знаходяться як усередині, так і поза межами клітин. При фарбуванні мазків-відбитків за Маккіавелло елементарні тільця хламідій забарвлюються в червоно-фіолетовий або червоний колір, а великі тільця – в синьо-фіолетовий. Розміщуються хламідії всередині клітин у вигляді компактних цитоплазматичних включень, а ззовні – невеличкими групами.

Слід зауважити, що не в усіх мазках, виготовлених із різних ділянок одного органа, результат позитивний. Це пояснюється тим, що тільця хламідій у мазках-відбитках, а, відповідно, і в тканинах мають не дифузне розміщення, а розташовуються у вигляді окремих колоній, як при спонтанному хламідіозі, так і при експериментальному відтворенні хвороби у тварин. У мазках-відбитках, зроблених із плаценти свиноматок, тільця хламідій мають дифузне розташування.

Загибель білих мишей, заражених суспензією хламідій, виділених від мертвнонароджених поросят і з плаценти свиноматок із господарств, у яких проводяться планові вакцинації тварин, відбувається, починаючи з п'ятого пасажу. Незважаючи на відсутність загибелі та клінічних проявів хвороби, починаючи з першого сліпого пасажу суспензії хламідій, виділених від мертвнонароджених поросят, у білих мишей реєструються виразні патоморфологічні зміни. При цьому на 8-11-ту добу в мазках-відбитках з органів реєструються тільця хламідій.

При зараженні білих мишей матеріалом, відібраним від інфікованих поросят-гнотобіотів, загибель відбувається на другому пасажі. Це вказує на те, що більш патогенним є матеріал, відібраний від свиней при їх інфікуванні без попередньої вакцинації.

При постановці біопроби на курячих ембріонах під час розтину встановлено кровонаповнення судин та крововиливи в ділянці голови, хоріоалантоїсної та жовткової оболонок.

Ідентифікація збудника хламідіозу за допомогою ПЛР-аналізу проводилася на наявність ДНК-фрагменту, характерного для всіх видів хламідій родини Chlamydiaceae. Дана реакція не в усіх випадках була інформативною, коли у досліджених шматочках з одного і того ж органа отримували як негативні, так і позитивні результати, що пояснюється розташуванням тілець хламідій в уражених тканинах у вигляді колоній.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Настанова із лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин / М. О. Вержиховський, А. В. Абрамов, З. Р. Троце-

Навіть при дослідженнях синовіальної речовини суглобів, у яких було зареєстровано морфологічно виражені артрити, нерідко в різних місцях з одного суглоба дані виявилися різними.

Порівняльний аналіз результатів усіх застосованих методів діагностики хламідіозу дав змогу дійти висновку, що для стовідсотково правильного результату (як позитивного, так і негативного) для будь-якого з офіційно затверджених методів виявлення збудника хламідіозу необхідно проводити дослідження не менш як п'яти зразків матеріалу від кожної тварини.

Слід відзначити, що тільця хламідій нами були виявлені в мазках-відбитках з органів мертвнонароджених плодів та з їх плацент у всіх обстежених свинарських господарствах. Це дає підстави зробити висновок, що в стаціонарно неблагополучних господарствах постійно має місце трансплацентарний (вертикальний) шлях передачі збудника.

Висновки:

1. Проведені лабораторні дослідження з діагностики хламідіозу свиней вказують на особливості результатів різних методів досліджень. Так, РЗК є малоінформативною й пояснюється тим, що організм свиней продукує так звані неповні (інгібіторні) антитіла, які мають властивість блокувати хламідійний антиген без зв'язування в РЗК.

2. Внаслідок розташування хламідій у вигляді окремих скупчень в органах і тканинах інфікованих тварин, ідентифікація збудника в мазках-відбитках та за допомогою ПЛР не в усіх випадках дослідження є позитивною. Більш результативним є дослідження хоріоалантоїсних оболонок, де розташування носить дифузний характер.

3. Незважаючи на низьку патогенність хламідій у білих мишей вже на 8-11-ту добу після первинного зараження в мазках-відбитках виявляються тільця хламідій, а на 25-ту добу після зараження спостерігаються специфічні зміни у внутрішніх органах.

4. Результат біопроби на білих мишах вказує на більшу патогенність суспензії, відібраної від експериментально заражених поросят, у порівнянні із зараженням матеріалом від спонтанно хворих тварин із господарств із плановою вакцинацією.

нко [та ін.]. – К. : Ветінформ, 2006. – 44 с.

2. Орлянкін Б. Г. Хламідіоз свиней / Б. Г. Орлянкін // Тваринництво України. – 2007. – № 1. – С. 40-42.

3. *Неволько О.М.* Порівняльна характеристика методів діагностики та їх удосконалення при хламідіозі сільськогосподарських тварин : автореф. дис. ... канд. вет. наук : спец. 16.00.03 „Ветеринарна мікробіологія та вірусологія” / О.М. Неволько. – К., 2008. – 26 с.
4. *Стегній Б.Т.* Діагностика та ідентифікація хламідіозів тварин / Б.Т. Стегній, А.Ф. Бабкін, А.М. Коваленко // Вісник аграрної науки. – 2003. – № 12. – С. 36-39.
5. *Шаткин А.А.* Персистентная хламидийная инфекция в культуре клеток / А.А. Шаткин, В.Л. Попов // Вестник АМН СССР. – 1985. – № 3. – С. 51-54.
6. *Шкавро Н.М.* Виявлення ДНК збудників хламідіозу та ІРТ ВРХ за допомогою полімеразної ланцюгової реакції / Н.М. Шкавро, О.В. Щербак, І.М. Ксьонз // Біологія тварин. – 2006. – № 8. – С. 255-259.