Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**НЕВОЛЬКО ОЛЕГ МИХАЙЛОВИЧ**

**УДК 619:616.988.98:578.831**

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ ТА ЇХ УДОСКОНАЛЕННЯ ПРИ ХЛАМІДІОЗІ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН**

**16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата ветеринарних наук**

**Київ – 2008**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Національному аграрному університеті

Кабінету Міністрів України, м. Київ

**Науковий керівник** – доктор ветеринарних наук, професор

**Бортнічук Володимир Андронович,**

Національний аграрний університет, професор кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології

**Офіційні опоненти**: доктор ветеринарних наук, професор

**Ковальов Василь Львович**,

Південна філія «Кримський державний агротехнологічний університет» Національного аграрного університету, завідувач кафедри епізоотології, паразитології і ветсанекспертизи

кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник

**Кучерявенко Олександр Олександрович,** Інститут ветеринарної медицини УААН, провідний науковий співробітник лабораторії лептоспірозу

Захист відбудеться «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2008 р. о \_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.03 у Національному аграрному університеті за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв Оборони 15, навчальний корпус №3, ауд. 65

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного аграрного університету за адресою: 03041, м. Київ-41, вул. Героїв Оборони 13, навчальний корпус №4, кім. 28

Автореферат розісланий «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ С.В. Міськевич

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Хламідіози набули значного поширення в різних країнах світу не тільки серед сільськогосподарських, але й багатьох видів диких, промислових та домашніх тварин. Як антропозоонози ця група хвороб являє реальну загрозу здоров’ю людей.

Хламідії, як облігатні внутрішньоклітинні паразити, здатні обумовити полісистемне ураження організму з поширенням патологічного процесу на репродуктивну, центральну нервову систему, органи дихання та травлення, внаслідок чого неблагополучним господарствам наносяться значні економічні збитки від недоотримання приплоду, загибелі тварин, передчасної вибраковки елітних плідників, відставання молодняку в рості і розвитку.

Починаючи з 70–80-х років минулого та початку цього століття, були описані більшість хламідійних інфекцій тварин. Значний внесок у вивчення хламідіозів зробили В.А. Бортнічук і співроб., 1970, 1991, 2006; Г.П. Щербань, Г.Д. Фирсова, 1974, 1981, 2000; група казанських вчених (Хамадеев Р.Х., Хусаинов Ф.М., Гаффаров Х.З., Равилов А.З., 1975, 2001, 2005, 2007); В.Л. Ковальов і співроб., 1987, 1988, 2003; П.М. Митрофанов, 1987, 1990, 2005; Ю.Д. Караваев, 1990, 2003; В.О. Лук’янчук, 1994; E.F. Kaleta, 1997; М. Косенко і співроб., 2001; K. Henning, 2001; В.М. Ушаков, В.Я. Атамась, 2002; D. Longbottom, 2002; І.М. Ксьонз, 2004, 2006; А.Ф. Бабкін, Б.Т. Стегній, 2005; I. Bagdonas, 2005; і ін.

Не зважаючи на значні успіхи у вивченні хламідіозу, потребують істотного поліпшення та удосконалення методи діагностики, визначення видового складу хламідій з характеристикою їх загальнобіологічних та імунологічних особливостей. Залишається до кінця не з’ясованою роль клініко-епізоотологічних та патолого-анатомічних даних у системі діагностики хламідіозу, особливо при його гострій та латентній формах прояву. Відсутня порівняльна характеристика існуючих методів діагностики, зокрема, при виявленні хламідій з використанням традиційних методів фарбування препаратів, що істотно впливає на достовірність одержаних результатів.

Виділення хламідій є однією з провідних ланок діагностики хламідіозу, проте цей напрямок має істотний недолік. Використання білих мишей, морських свинок, кролів при дослідженні безпосередньо патологічного матеріалу не дає гарантій на одержання позитивного результату у зв’язку з тим, що різні види хламідій значно відрізняються за ступенем патогенності по відношенню до лабораторних тварин.

Потребують значного удосконалення серологічні методи діагностики хламідіозу з переглядом, зокрема, діагностичної значимості реакції зв’язування комплементу (РЗК) порівняно з іншими серологічними реакціями.

Особливого значення набувають дані щодо видового складу хламідій в конкретному регіоні. На території України відсутні відомості щодо видів хламідій, які уражають сільськогосподарських тварин та птицю. Якщо врахувати, що точна діагностика хламідіозів та їх специфічна профілактика значною мірою залежать від вміння не тільки виділяти хламідії, але й визначати їх видовий склад, то стає очевидним, наскільки актуальними є напрямки подальшого поглибленого вивчення цих мікроорганізмів.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом наукової тематики кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ННІ ВМЯБПТ НАУ „Клініко-епізоотологічні особливості хламідіозу сільськогосподарських тварин та удосконалення методів його діагностики” (державний реєстраційний номер 0107U004867).

**Мета і завдання дослідження.** В порівняльному аспекті оцінити клініко-епізоотологічні, патолого-анатомічні особливості хламідіозу у великої рогатої худоби та свиней, удосконалити деякі методи лабораторної діагностики інфекції.

Для досягнення мети необхідно було виконати такі завдання:

- порівняти клініко-епізоотологічні, патолого-анатомічні дані у великої рогатої худоби та свиней і оцінити діагностичне значення цих показників при хламідіозі;

- оцінити діагностичне значення реакції зв’язування комплементу (РЗК) порівняно з іншими імунологічними методами діагностики хламідіозу;

- розробити поліпшений варіант реакції імуноферментного аналізу (ІФА) та здійснити виробниче випробування цієї реакції при діагностиці хламідіозу сільськогосподарських тварин;

- виділити штами хламідій від великої рогатої худоби та свиней, здійснити їх ідентифікацію з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР);

- вивчити біологічні властивості виділених штамів;

- одержати проти виділених штамів гіперімунні сироватки і порівняти ці штами шляхом постановки реакції нейтралізації (РН);

- визначити рівень економічних збитків у господарствах, неблагополучних з хламідіозу;

- взяти участь у написанні і підготовці до друку “Настанови з лабораторної діагностики хламідіозу сільськогосподарських тварин”.

*Об’єкт дослідження –* методи діагностики хламідіозу сільськогосподарських тварин в порівнянні; велика рогата худоба та свині з господарств, неблагополучних щодо хламідіозу.

*Предмет дослідження –* особливості прояву хламідіозу у великої рогатої худоби та свиней, критична оцінка методів діагностики хламідіозу; біологічні властивості штамів хламідій.

*Методи дослідження.* Епізоотологічні (епізоотологічне обстеження), клінічні (огляд і пальпація сільськогосподарських тварин і птахів), патолого-анатомічні (патолого-анатомічний розтин), вірусологічні (ізоляція, ідентифікація та культивування збудника на курячих ембріонах, білих мишах, морських свинках), молекулярно-біологічні (ідентифікація та молекулярно-генетична оцінка збудника в ПЛР), імунологічні (дослідження в РНГА, РЗК, ІФА, РТЗК, РНЗК), статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Визначено широту розповсюдження хламідіозу серед сільськогосподарських та промислових тварин на території Черкаської області. Показано, що хламідіоз серед тварин може перебігати не лише в хронічній, але й гострій формах, підтверджена міжвидова передача хламідіозу. В порівняльному аспекті оцінені методи світлової та люмінесцентної мікроскопії при діагностиці хламідіозу, доведена низька діагностична цінність реакції зв’язування комплементу, розроблено модифікований варіант реакції імуноферментного аналізу з використанням рекомбінантного білка. Виділено та вперше ідентифіковано з визначенням роду за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) 4-х штамів хламідій, які підготовлені для офіційного депонування. Показано, що штами хламідій, виділені від великої рогатої худоби, за імунологічними характеристиками були близькими між собою, проте виявились значно віддаленими від тих, які були виділені від свиней. Вперше описано таку клінічну ознаку хвороби як артрити у корів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Критично оцінені відомі методи світлової та люмінесцентної мікроскопії при виявленні хламідій в досліджуваних матеріалах. Рекомендовано мазки безпосередньо із патологічного матеріалу фарбувати модифікованим методом Романовського – Гімза, в інших випадках застосовувати методи Стемпа, Маккіавелло та акридиновим оранжевим для люмінесцентної мікроскопії. Визначені можливі артефакти при використанні цих методів. Провідне значення при виявленні хламідій має реакція імунофлуоресценції (РІФ) як у прямому, так і в непрямому варіантах. Матеріали використані при написанні «Настанови із лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин». При проведенні імунологічних досліджень, спрямованих на виявлення антитіл проти хламідій в сироватці крові, в першу чергу доцільно застосовувати реакцію імуноферментного аналізу (ІФА) в нашій модифікації та реакцію непрямої гемаглютинації (РНГА). Реакцію зв’язування комплементу застосовувати як другорядний діагностичний тест, особливо при діагностиці хламідіозу у свиней. Клініко-епізоотологічні та патолого-анатомічні дані при хламідіозі самостійного діагностичного значення не мають і можуть використовуватись при комплексній діагностиці хламідіозу.

Результати досліджень використовуються в практиці роботи Черкаської, Сумської, Херсонської, Дніпропетровської, Донецької та Запорізької державних обласних лабораторій ветеринарної медицини, під час проведення занять зі студентами та на курсах підвищення кваліфікації вірусологів на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Національного аграрного університету (м. Київ).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем самостійно сформульована мета і задачі досліджень, розроблена схема основних дослідів, проведено науково-виробничі та лабораторні дослідження, проаналізовано і узагальнено літературні дані та статистично оброблено результати власних досліджень. Аналіз та обговорення результатів досліджень, підготовка їх до друку, написання дисертації й автореферату здійснено самостійно та за допомогою наукового керівника.

Здобувач брав безпосередню участь у розробці модифікованого варіанта ІФА (кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології НАУ) та типізації виділених штамів хламідій з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) під керівництвом старшого наукового співробітника Полтавського філіалу Інституту ветеринарної медицини УААН І.М. Ксьонза.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертації доповідались і обговорювались на:

- щорічних наукових конференціях викладачів та аспірантів факультету ветеринарної медицини Навчально-наукового інституту ВМЯБПТ НАУ в 2005–2007 роках;

- Міжнародній науково-практичній конференції «Епізоотологія і профілактика інфекційних хвороб великої рогатої худоби» (14–16 березня 2006 р., Київ, НАУ);

- Міжнародній науково-практичній конференції «Наукові та практичні аспекти ветеринарної медицини в Україні», присвяченої 75-річчю заснування факультету ветеринарної медицини Білоцерківського ДАУ (27–28 вересня 2006 р., Біла Церква);

- Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми ветеринарної медицини у свинарстві» (2–4 жовтня 2006 р., Київ, Інститут ветеринарної медицини УААН);

- науково-практичній конференції «Перспективи розвитку ветеринарної медицини України» (26–28 вересня 2007 р., Луганськ, ЛНАУ).

**Публікації.** Основні результати досліджень викладені у 9 друкованих працях, з них 8 статей опубліковані у фахових виданнях згідно з переліком ВАК України.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 180 сторінках комп’ютерного друку й складається із вступу, огляду літератури, вибору напрямків виконання роботи, матеріалів та методів досліджень, результатів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних літературних джерел, додатків. Робота ілюстрована 12 таблицями, 31 рисунками. Список використаної літератури включає 397 найменувань, в тому числі 206 – з далекого зарубіжжя.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**ВИБІР НАПРЯМКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ВИКОНАННЯ РОБОТИ**

Робота виконувалась протягом 2000–2007 років на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології НАУ ВМЯБПТ Національного аграрного університету, на базі вірусологічного, бактеріологічного та патолого-анатомічного відділів Черкаської обласної державної лабораторії ветеринарної медицини, Полтавського філіалу ІВМ УААН.

Клініко-епізоотологічні, патолого-анатомічні дослідження проведені на 2779 головах великої рогатої худоби, 3205 головах свиней, що належали СПП «РВД-Агро» Черкаського району, ТОВ Агрофірма МКТ Чигиринського району, ТОВ «Плешкані», СТОВ а/ф «Маяк», СТОВ «Пальмира» Золотоніського району, ТОВ ім. Шевченка, СТОВ «Родина», ТОВ «Богодухівське», СТОВ «Лан», СТОВ ім. Чкалова, ПСП «Веселий Хутір» Чорнобаївського району, СТОВ «Перемога», ДСП «Агрокомплекс» Смілянського району, СТОВ «Новоселиця» Катеринопільського району.

У процесі досліджень використали 16830 курячих ембріонів, 1376 білих мишей, 928 морських свинок, 10 півнів. Імунологічними методами досліджено 7307 проб сироватки крові великої рогатої худоби, 6765 проб сироватки крові свиней. На наявність хламідій досліджено 3611 проб патологічного матеріалу від тварин та птиці.

У роботі використали клінічні, епізоотологічні, бактеріологічні, вірусологічні, гематологічні, імунологічні, статистичні методи досліджень.

Клінічне обстеження тварин, патолого-анатомічний розтин трупів проводили за загальноприйнятими методами. Епізоотологічне обстеження господарств проводили відповідно до «Методологических указаний по эпизоотологическому обследованию» (Бакулов И.А. и др., 1986).

Для дослідження на хламідіоз відбирали патологічний матеріал: а) від корів і свиноматок, які абортували: абортовані плоди або їх внутрішні органи, мертвонароджені плоди, вагінальний слиз, ділянки плаценти із геморагічними інфільтратами; б) від поросят, телят, інших тварин: ділянки головного мозку, шматочки печінки, селезінки, нирок, легень, лімфатичні вузли, синовій, кон’юнктивальні зскрібки; в) від кнурів і бугаїв – зразки сперми або вражені сім’яники. Проби доставляли в лабораторію у термосах з льодом.

З метою порівняльної оцінки мазки із досліджуваного матеріалу фарбували методами Романовського-Гімза, Стемпа, Маккіавелло, акридиновим оранжевим та обробляли антихламідійними діагностичними сироватками з антитілами, міченими ФІТЦ, для постановки реакції імунофлуоресценції (РІФ).

Для постановки РІФ використали «Набор флуоресцирующих иммуноглобулинов и контрольных сывороток для диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных» виробництва ВНДВІ (м. Казань).

Для виділення культур хламідій використали 5–6-добові курячі ембріони (КЕ), білих мишей та вагітних морських свинок.

Курячі ембріони заражали в жовтковий мішок у дозі 0,3–0,5 см3 суспензією із патологічного матеріалу, яку звільняли від бактерій і грибів центрифугуванням при 2–3-х тис. об/хв. протягом 15–20 хв з додаванням до надосадової рідини гентаміцину (25 мкг/мл), стрептоміцину (100 – 200 мкг/мл), канаміцину (100 мкг/мл), ністатину (25 мкг/мл). Через добу при відсутності росту на МПА, МПБ, МППБ матеріал використовували для зараження КЕ.

Заражені КЕ інкубували в інкубаторі при температурі 37–39ºС з відносною вологістю повітря 55–60 % і двічі на добу проглядали в овоскопі. Ембріони, які загинули не раніше 4-ої доби після зараження, розтинали в умовах стерильного боксу, для дослідження відбирали жовтковий мішок. Після звільнення від жовтка з стінок мішка готували 20 % суспензію для наступного пасажу, з решти – готували мазки для світлової та люмінесцентної мікроскопії.

Білих мишей масою 16–20 г заражали в черевну порожнину в дозі 0,5 см3 або в грудну порожнину через міжреберні зони з правого боку в дозі 0,3 см3. Для визначення спектра патогенності виділених штамів хламідій білих мишей також заражали інтрацеребрально та інтраназально.

Вагітних морських свинок заражали підготовленим досліджуваним матеріалом у черевну порожнину в дозі 0,5 см3, або інтраторакально в дозі 0,3 см3. У випадку загибелі після розтину трупів готували 20 % суспензію із внутрішніх органів на фізіологічному розчині. Мазки із внутрішніх органів досліджували на наявність хламідійних структур світловою та люмінесцентною мікроскопією.

Імунологічні дослідження проводили з використанням реакції зв’язування комплементу (РЗК), непрямої гемаглютинації (РНГА), імуноферментного аналізу (ІФА), нейтралізації (РН).

РЗК ставили у вигляді прямого варіанта, мікрометодом, та непрямого варіанта (РНЗК), який позначають ще як інгібіторну РЗК і використовують для виявлення «неповних або блокуючих антитіл».

РНГА ставили з еритроцитарним діагностикумом, виготовленим ВНДВІ, м. Казань. Досліджувані сироватки розводили фосфатно-сольовим буфером з 1 % конячої сироватки 1:5 в пробірках Флоринського і інактивували у водяній бані при 56–58ºС. Проби сироваток розводили від 1:10 до 1:5120, розливали в U-подібні планшети в дозі 50 мкл, додавали еритроцитарний діагностикум по 20 мкл. Після змішування суміші планшети залишали при кімнатній температурі і через 1–1,5 години проводили облік реакції.

Реакцію ІФА ставили з використанням двох наборів: 1) набору Chlamydia psittaci bovine cypress diagnostics для виявлення антитіл у сироватці крові великої рогатої худоби; 2) тест-системи діагностичної імуноферментної «Chlamyliso test AB» для виявлення антитіл у сироватці крові будь-яких сільськогосподарських тварин. В останньому наборі так звана антивидова сироватка, мічена пероксидазою, замінена на рекомбінантний білок, синтезований в лабораторії вірусології НАУ за нашою участю. Для цієї реакції нами підготовлені завідомо позитивні хламідійні сироватки та завідомо негативні сироватки, які використані як контролі. Облік проводили не пізніше ніж через 3 хв. після зупинення кольорової реакції шляхом визначення оптичної густини в лунках у двохвильовому режимі (450/ 620 нм).

Виділені штами хламідій ідентифікували на підставі виявлення в препаратах характерних для хламідій морфологічних структур типу елементарних та ретикулярних тілець з використанням світлового та люмінесцентного мікроскопів. Остаточне визначення природи виділених штамів хламідій здійснювали за допомогою ПЛР, яку ставили на базі Полтавської дослідної станції ІВМ УААН під керівництвом ст. наукового співробітника І.М. Ксьонза. ПЛР ставили з використанням специфічних олігонуклеотидних праймерів, комплементарних ділянкам генів, що кодують 16 Sp РНК з універсальною довжиною для всіх видів хламідій.

Визначення титру виділених штамів хламідій проводили за показником LD50 для курячих ембріонів за методом Ріда і Менча. Час загибелі ембріонів, як середньостатистичний показник, розрахували за методом O.J. Golub.

Експериментальне відтворення хламідіозу на поросятах-гнотобіотах провели разом із співробітниками Полтавської дослідної станції ІВМ УААН під керівництвом ст. наукового співробітника І.М. Ксьонза. В досліді використали штам А-2536, виділений із внутрішніх органів абортованих плодів свиноматки. Штам пройшов 6 пасажів через жовтковий мішок КЕ і мав титр 10-4,16 ЕLD50/0,4мл. Три групи поросят-гнотобіотів заражали 20 % суспензією жовткових мішків КЕ 6-го пасажу різними способами: інтраназально та орально; в черевну порожнину; інтраназально, орально, в черевну порожнину. Двоє поросят знаходились в контакті з зараженими, ще двоє, як контрольні, утримувались ізольовано.

Імунологічну характеристику хламідій визначали в дослідах перехресного зараження білих мишей, яких попередньо імунізували інактивованими штамами хламідій: штам ВС-2099 виділений із вагінального слизу корови, що абортувала; Т-1549 виділений із внутрішніх органів теляти з респіраторним синдромом; А-2536 виділений із абортованих плодів свиноматки; ДС-2562 виділений із внутрішніх органів свинки, що загинула. Інактивацію штамів перед імунізацією мишей здійснювали за методом Ф.М. Хусаинова (2007).

Після закінчення імунізації білих мишей перехресно заражали в черевну порожнину відповідними активними штамами хламідій. Результат експерименту визначали за кількістю мишей, що вижили, на фоні 100 % загибелі тварин у відповідних контролях.

Імунологічну спорідненість виділених штамів хламідій визначали також шляхом постановки реакції нейтралізації (РН). Попередньо готували гіперімунні сироватки проти штамів хламідій ДС-2562 і Т-1549, виділених відповідно від свинки і теляти. Сироватки отримували шляхом 9-ти разових почергових внутрішньом’язових і внутрішньовенних ін’єкцій названих штамів півням. Після завершення імунізації в пробах сироватки крові півнів виявили антитіла до хламідіозного антигену в титрах 3 log2 (РЗК), 4 log2 (РНГА).

РН ставили на білих мишах, яким у черевну порожнину вводили відповідний штам хламідій в концентрації 100 LD50/0,4 мл для КЕ у співвідношенні 1:1 по 0,25 мл з гіперімунною сироваткою. Суміш перед зараженням витримували в термостаті протягом 60 хв. Окремій групі білих мишей вводили аналогічну суміш, до якої додавали 2 ОД комплементу. Контрольні групи роздільно заражали чистими штамами хламідій, гіперімунною сироваткою та комплементом. Облік реакції здійснювали через 24 год. після загибелі мишей у відповідних контрольних групах.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ**

**Основні клініко-епізоотологічні, патолого-анатомічні дані та їх значення при діагностиці хламідіозу сільськогосподарських тварин.** За наслідками проведеного епізоотологічного моніторингу та спеціальних лабораторних досліджень хламідіоз на території Черкаської області був зареєстрований серед великої рогатої худоби та свиней в переважній більшості районів. Незначна кількість неблагополучних пунктів щодо інших видів тварин пояснюється, в першу чергу, значним скороченням і навіть відсутністю деяких із них. Зокрема, відчутно скоротилось поголів’я коней, у більшості районів зникли вівці, кози, норки, зменшилось поголів’я водоплавної птиці.

Встановлено, що хламідіоз уражає всі вікові і статеві групи тварин і має тенденцію до міжвидової передачі. Факторами передачі інфекції в одних випадках виявились інфіковані корми, як це мало місце в КСП «Зоря» Черкаського району, де одним транспортом і одним обслуговуючим персоналом завозились корми на неблагополучну ферму великої рогатої худоби і вівцеферму, що призвело до появи хламідіозу серед овець. В інших випадках збудник хламідіозу легко передавався через молоко хворих корів, внаслідок чого захворіли поросята і ягнята, яким згодовували таке молоко. Корови виділяють збудника хламідіозу також з вагінальним слизом після патологічних родів або аборту. Так, із 649-ти досліджених проб вагінального слизу наявність хламідій була підтверджена виділенням збудника на КЕ та світловою мікроскопією в 145-ти пробах (22,3 %). Постійно збудник виділяється із внутрішніх органів абортованих плодів та тварин, що загинули. З 2432-х таких проб хламідії були підтверджені спеціальними дослідженнями в 739-ти (30,4 %) пробах. Досить високим був показник виділення хламідій із сперми бугаїв-плідників (113 позитивних проб із 412-ти досліджених), кон’юнктивального та носового слизу телят (40 і 15 % позитивних проб відповідно).

Встановлено, що стаціонарність вогнища хламідіозної інфекції постійно підтримують деякі види птиці та окремі види диких тварин. Оригінальний ланцюг передачі хламідіозу зареєстровано нами в спеціалізованому господарстві з вирощування качок (Золотоніський район). Від хворих голубів, які перебували на території качатників, заразились качки, від останніх контактним шляхом – телята. В іншому випадку серед голубів гастролюючого цирку виник орнітоз, переважна більшість птахів загинула. Шимпанзе, який мав контакт з хворими голубами, захворів з ураженням органів дихання та шлунково-кишкового тракту і загинув. Комплексним дослідженням матеріалів від голубів і шимпанзе був підтверджений діагноз на хламідіоз.

Окрім голубів, носіями збудника хламідіозу виявились папуги, перепели, качки, гуси, із внутрішніх органів яких (33 проби) ми в 100 % випадків виділили хламідії. Підтвердженням наявності активного інфекційного процесу в організмі голубів є виявлення у сироватці їх крові антитіл до хламідіозного антигену в діагностичних титрах (із 18 досліджених проб (Чорнобаївський район) позитивними були 14 (77,7 %) в титрах 3–5,5 ± 0,92 log2. Із 34-х проб сироватки крові голубів (Черкаський район) позитивними були 7 проб (20,5 %) з титрами 2-5 ± 1,2 log2 (РЗК). Антитіла в РНГА виявили також у 13,6 % проб сироватки крові диких свиней в титрах 2,1-3,2 ± 0,8 log2 та у 18,1 % проб косуль в титрах до 5 log2 (± 1,2).

У ряді випадків хламідіоз може проявлятись як змішана інфекція. При дослідженні сироватки крові телят в РЗГА антитіла до вірусу парагрипу-3 виявлялись у 96,4 % в титрах 6,5–9,2 log2, до рота-, коронавірусів – у 100 % випадків в титрах 4-8 log2. Титри антитіл у парних сироватках підвищувались в діагностично достовірних величинах.

Хламідіоз може перебігати як у гострій, так і хронічній формах. Перша із них притаманна господарствам, в яких захворювання виникає вперше, або серед тварин, які до цього не хворіли. Різко підвищити активність інфекційного процесу з переходом хронічної форми в гостру можуть стресові ситуації, особливо у випадку перевезення тварин на далекі відстані. В одне із господарств Чорнобаївського району із Данії були завезені ремонтні свинки і кнурці, яких розмістили в окремих підготовлених ізольованих приміщеннях з нормальними умовами утримання і годівлі. Не зважаючи на це, через 1,5–2 доби тварини захворіли, переважно з ураженням органів дихання та травлення з розвитком орхітів, кон’юнктивітів, артритів. Із внутрішніх органів свинки, що загинула, був виділений штам хламідій ДС-2562. При дослідженні 30-ти проб сироватки крові хворих свиней антитіла до хламідіозного антигену в РЗК були виявлені в 9-ти пробах (30 %) у титрах 2–3 log2. На підставі характерних клінічних ознак, даних патолого-анатомічного розтину та результатів лабораторних досліджень був поставлений діагноз на хламідіоз, який із латентної форми на фоні стресового впливу перейшов у гостру форму. При цьому бактеріологічними та вірусологічним дослідженнями не були виявлені інші найбільш поширені інфекційні хвороби.

При порівнянні клінічних ознак хламідіозу у великої рогатої худоби і свиней виявлена практично їх ідентичність, що пояснюється, в першу чергу, природою збудника, який здатний уражати всі органи і системи організму. Розвиток клінічних ознак знаходиться в прямій залежності від гостроти перебігу хламідіозної інфекції (табл. 1).

Із таблиці видно, що при первинному виникненні хвороби у корів, які раніше не хворіли, кількість абортів становить 52 %. У стаціонарно неблагополучних господарствах абортують 5–6 % корів.

Аборти відбуваються на 7–9-му місяцях тільності, в окремих корів – на 3–4-му місяцях. Нерідко корови народжують живих телят, проте внаслідок внутрішньоутробного зараження молодняк нежиттєздатний і гине в перші дні життя від 30 до 96 %.

У корів після аборту або патологічних родів спостерігається затримка посліду (31–45 %), розвиваються ендометрити (31–34 %) та мастити, на які припадає близько 24 %. Такі корови виділяють збудника хламідіозу з вагінальним слизом та молоком.

Унікальний клінічний випадок зареєстрований нами серед корів МТФ СТОВ АФ «Маяк», у яких виявили 69 голів (25,5 %) з поліартритами та бурситами. Переважно вражались суглоби тазових, рідше – грудних кінцівок. Запалення

Таблиця 1

**Діагностика перебігу хламідіозу у корів та новонароджених телят залежно від форми інфекції**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва господарства | Форма інфекції | Всього корів, гол | Абортувало протягом року, гол | Народилось нежиттєздатних телят, гол | Загинуло телят протягом 1-2 доби, гол | Затримка посліду | Ендометрити | Мастити |
| КСП «Промінь» Черкаського р-ну | хронічна | 800 | 48  6% | 148  15,12% | 49  30,06% | 257  32,1% | 276  34,5% | 192  24% |
| СТОВ «Новоселиця» Катеринопільського р-ну | гостра | 416 | 216  52% | 163  39,1% | 121  81,7% | 187  44,9% | 142  34,1% | 101  24,2% |
| СТОВ АФ «Маяк» Золотоніського р-ну | хронічна | 680 | 35  5,1% | 132  19,4% | 12  57,1% | 70  10,2% | 245  36,0% | 162  23,8% |
| СТОВ «Богодухівське» Чорнобаївського р-ну | гостра | 116\* | 61  52,5% | 21  38,1% | 127  96,2% | 37  31,9% | 63  54,3% | 28  24,1% |

Примітка. \* - нетелі.

характеризувалось як серозно-геморагічне, інколи – гнійне. Артрити у таких корів розвивались через 2–3 тижні після аборту або патологічних родів з затримкою посліду. Хламідіозна етіологія виявлених артритів підтверджувалась загальним діагнозом та виділенням хламідій із вмісту суглобів на курячих ембріонах з ідентифікацією в РІФ на фоні негативних бактеріологічних досліджень. До згаданого випадку ми не знаходили повідомлень про розвиток артритів у корів при хламідіозі, це явище було типовим лише для молодняка.

У новонароджених тварин хламідіоз проявляється однотипово. У поросят і телят спочатку спостерігається розлад функції кишечника з переходом патологічного процесу на органи дихання, що сприяє розвитку риніту, бронхіту і бронхопневмонії. У частини тварин розвиваються також кон’юнктивіти, артрити, уражається центральна нервова система.

У самців-плідників хламідіоз проявляється, в першу чергу, в генітальній формі. При цьому розвиваються орхіти, уретрити, баланопостити, ентерити, парези окремих груп м’язів.

Патолого-анатомічні зміни при хламідіозі характеризуються з позицій серозно-фібринозного типу запалення, яке виникає внаслідок ураження хламідіями ендотелію кровоносних судин, що сприяє розвитку тромбозів з некрозами та випотом рідкої частини крові за межі судин. Внаслідок цього розвивається серозно-фібринозний перитоніт, перикардит, плеврит з наявністю ниток фібрину на серозних покривах порожнин.

Інтенсивність прояву як клінічних ознак, так і патолого-анатомічних змін при хламідіозі надзвичайно варіюють залежно від форми прояву інфекції (гостра чи хронічна), внаслідок чого ці дані необхідно розцінювати як передумову до постановки діагнозу, остаточний висновок якого здійснюється на проведенні лабораторних досліджень.

**Порівняльна оцінка методів лабораторної діагностики хламідіозу сільськогосподарських тварин.** Перший етап діагностики хламідіозу передбачає фарбування мазків як із вихідного патологічного матеріалу, так і матеріалів, одержаних у процесі виявлення збудника на лабораторних тваринах та курячих ембріонах. Традиційно препарати фарбують методами Романовського-Гімза, Стемпа, Маккіавелло, акридиновим оранжевим та деякими іншими. Проте порівняльна характеристика цих методів практично відсутня, у зв’язку з чим при їх оцінці виникають труднощі щодо об’єктивності одержаних результатів. На цій підставі нами було виготовлено і оброблено понад 3600 мазків з вивченням ступеня інформативності названих методів.

Встановлено, що метод Романовського-Гімза переважає інші тим, що при його застосуванні ефективніше виявляються внутрішньоклітинні структури хламідій, які мають вигляд розпушених або щільних цитоплазматичних включень і складаються із часток збудника на різних стадіях дозрівання.

Слід відмітити, що цей метод майже не придатний для виявлення позаклітинно розташованих хламідій, які можуть мати подібність до різних клітинних елементів, особливо при фарбуванні мазків із стінок жовткових мішків заражених курячих ембріонів. При цьому дрібні гранули жовтка певною мірою нагадують тільця хламідій і при недостатній кількості збудника в матеріалі цим методом одержують сумнівні результати.

Метод Стемпа більшою мірою придатний для виявлення хламідій, розташованих за межами клітин, які внаслідок певної кислотостійкості зберігають червоний колір на синьому фоні. Цей метод гірше диференціює хламідійні цитоплазматичні включення. Метод Маккіавелло досить подібний за суттю до методу Стемпа. Хламідії, розташовані позаклітинно, зберігають також червоний колір на синьому фоні. Проте хламідійні включення не мають яскраво-червоного кольору, відтінки цих структур нерідко розмиті і за умови недостатньої кількості збудника в матеріалі цим методом також одержують сумнівні результати.

Фарбування препаратів акридиновим оранжевим для люмінесцентної мікроскопії виявляє менше артефактів, проте різні позаклітинно розташовані уламки з залишками нуклеїнових кислот можуть імітувати собою тільця хламідій. Метод також не дозволяє диференціювати інші мікроорганізми, які можуть бути в досліджуваному матеріалі.

Охарактеризовані вище методи належать до неспецифічних, тобто таких, які не можуть дати чіткої відповіді щодо природи виявлених мікроорганізмів, на підставі чого цим методам відводиться вторинна діагностична значимість.

Для швидкого виявлення хламідій та їх ідентифікації паралельно використовували реакцію імунофлуоресценції (РІФ), яку ставили прямим методом. Тільця хламідій, розташовані за межами клітин, мали чітко окреслену форму і світились яскраво-зеленим кольором. Колонії хламідій в клітинах (цитоплазматичні включення) містили тільця збудника, не утворювали щільних компактних структур і флуоресціювали зеленуватим з жовтим відтінком кольором. Всі позаклітинні структури, які світились, але мали різну величину і форму, розцінювались як артефакти і до уваги не брались. Перевага РІФ полягала в тому, що вона за інформативністю і достовірністю значно перевершувала інші методи (табл. 2) і дозволяла безпосередньо визначити природу, тобто ідентифікувати виявлені мікроорганізми як хламідії.

Таблиця 2

**Порівняльна характеристика ступеня інформативності методів світлової та люмінесцентної мікроскопії при хламідіозі**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва досліджуваного матеріалу | Методи фарбування препаратів | | | | |
| Романовського-Гімза | Стемпа | Маккіавелло | акридиновим оранжевим | міченими ФІТЦ-глобулінами – антихламідійними (РІФ) |
| Плацента свиноматок, що абортували | ++ | + | + | +++ | +++ |
| Внутрішні органи абортованих плодів свиноматок | + | ± | ± | + | ++ |
| Сперма кнурів | + | + | ± | + | ++ |
| Плацента корів , що абортували | + | ± | + | ++ | +++ |
| Внутрішні органи новонароджених телят | + | ± | ± | + | ++ |
| Вагінальний слиз корів, що абортували | ++ | + | ± | + | ++ |
| Сперма бугаїв | ± | ± | – | + | ++ |
| Стінка жовткового мішка курячих ембріонів, які загинули в І-му пасажі | + | ± | ± | ± | ++ |
| Стінка жовткового мішка КЕ, які загинули в ІІ-му пасажі | ++ | + | + | ++ | +++ |

Позначення: +++ інформативність висока;

++ інформативність обмежена;

+ інформативність незначна;

± вимагає уточнення.

Із табл. 2 видно, що світлова мікроскопія була не досить ефективною при дослідженні окремих матеріалів. При одночасному порівнянні кількості позитивних результатів з виділенням хламідій на курячих ембріонах і виявленням збудника методами звичайної мікроскопії останні значно поступались.

РІФ за інформативністю та достовірністю значно перевищує методи світлової мікроскопії і дає безпосередню відповідь щодо природи виявлених мікроорганізмів як хламідій за рахунок специфічності світіння. Крім того, РІФ можна віднести до експрес-методів діагностики хламідіозів, особливо порівняно з виділенням збудника на курячих ембріонах та лабораторних тваринах.

**Діагностичне значення реакції зв’язування комплементу (РЗК) при хламідіозі великої рогатої худоби та свиней.** Діагностичне значення РЗК оцінювали порівняно з результатами при одночасному дослідженні сироватки крові великої рогатої худоби і свиней за допомогою реакції непрямої гемаглютинації (РНГА) і реакції імуноферментного аналізу (ІФА).

Протягом 2001–2006 років з використанням названих вище реакцій дослідили на наявність антитіл до хламідіозного антигену 7307 проб сироватки крові великої рогатої худоби та 5742 проби від свиней.

Підтверджено, що РЗК у прямому варіанті виявилась досить низько чутливою при діагностиці хламідіозу. Особливо незначним був відсоток позитивності (3 %) при дослідженні сироватки крові свиней. Навіть у випадках, коли за клініко-епізоотологічними даними ставився попередній діагноз «хламідіоз», РЗК давала негативну відповідь. При порівнянні результатів досліджень з іншими реакціями (21,52 % позитивності в РНГА і 24,3 % - в ІФА) прямий варіант РЗК не дає підстав для його використання при діагностиці хламідіозу свиней.

Причиною подібної низької чутливості РЗК у свиней більш за все є те, що у цих тварин на певній стадії розвитку інфекційного процесу утворюються неповні (блокуючі) антитіла, які можна виявити за допомогою непрямої (інгібіторної) РЗК. При дослідженні цих же сироваток за допомогою РНЗК відсоток позитивності досяг 31,6 %.

Недостатню чутливість показала РЗК також при дослідженні сироватки крові великої рогатої худоби, у якої із 4990 проб позитивними виявились лише 350 (7 %), в той час як за даними РНГА, кількість позитивних проб зросла до 33,3 %, а за показниками ІФА – 67,3 %. Граничні титри антитіл у РЗК також були відносно низькими (5–6 log2) порівняно з РНГА (до 8 log2) та ІФА (до 8 log2).

РЗК виявилась вдвічі менш чутливою порівняно з РНГА також при дослідженні проб сироватки крові птиці. Зокрема, при одержанні гіперімунних сироваток проти штамів хламідій, що вивчались нами, після завершення циклу імунізації титри антитіл у півнів в РЗК становили 2 log2, в РНГА – 4 log2.

Однією з причин, що пояснює низьку чутливість РЗК при діагностиці хламідіозу є те, що при цьому захворюванні утворюються переважно імунні глобуліни G2, які не здатні зв’язувати комплемент морської свинки.

Цю функцію виконують Ig G1, проте вони синтезуються в незначній кількості тільки в період яскравого прояву хламідіозної інфекції.

**Розробка модифікованого варіанта реакції імуноферментного аналізу (ІФА) для діагностики хламідіозу сільськогосподарських тварин.** Реакція ІФА займає одне із чільних місць в системі серологічної діагностики хламідіозу, проте її серійне використання стримується тим, що в розпорядженні практичних лабораторій потрібно мати так звані антивидові сироватки, які містили б мічені пероксидазою антитіла проти глобулінів різних видів тварин.

З метою уніфікації ІФА в лабораторії біотехнології Національного аграрного університету за нашою участю проведено експериментальне дослідження, в процесі якого в наборі компонентів ІФА антивидова сироватка була замінена на рекомбінантний білок G, аналог мембранного білка Streptococcus sp., міченого пероксидазою. Такий білок здатний з високою афінністю взаємодіяти з широким спектром імуноглобулінів G ссавців. При утворенні комплексу антиген-антитіло названий мічений білок зв’язувався з цим комплексом і після внесення субстрат хромогенної суміші виникала кольорова реакція, яка свідчила про наявність антитіл до хламідіозного антигену в досліджуваних пробах сироватки крові. Одержаний рекомбінантний білок G мітили пероксидазою хрону шляхом перйодатного окиснення за Nakane з деякими модифікаціями.

Хламідіозний антиген готували із стінок жовткового мішка курячих ембріонів, заражених одним із штамів хламідій. Інактивовану нагріванням на киплячій водяній бані 10 % суспензію матеріалу очищали наростаючим центрифугуванням, концентрували центрифугуванням у градієнті щільності сахарози. До зібраної фракції елементарних тілець додавали додецилсульфат і етил меркаптан у концентрації 0,1 та 1 % відповідно. Звільнення від реагентів проводили шляхом діалізу проти 0,15 М калію хлористого. Очищений антиген сорбували на поверхні лунок полістиролових планшетів фірми Sarstedt.

Розроблена експериментальна тест-система одержала назву «Chlamyliso test AB». Для виявлення антитіл у досліджуваних пробах сироватки крові великої рогатої худоби і свиней реакцію ставили за стандартною схемою. Після зупинення кольорової реакції під час обліку результатів аналізу розраховували середнє значення оптичної густини для лунок негативного і позитивного контролів. Достовірними були такі показники, при яких оптична густина негативного контролю не перевищує значення 0,2 оптичних одиниць, а оптична густина позитивного контролю повинна бути не меншою 0,4 оптичних одиниць. На одержану систему розроблено технічні умови ТУУ 24.4-23524007-066:2006.

Виробничі випробування тест-системи здійснено на базі 6-ти обласних державних лабораторій ветеринарної медицини. При цьому проби сироватки крові великої рогатої худоби і свиней паралельно досліджували на наявність антитіл до хламідіозного антигену в РЗК і з використанням названої тест-системи.

Експериментальна тест-система була досить чутливою і виявляла порівняно з РЗК значно більшу кількість позитивних проб. Так, із 367-ми досліджених проб сироватки крові великої рогатої худоби позитивними в РЗК виявилась 161 проба (43,8 %), в той час як кількість позитивних проб в ІФА становила 75,4 %, причому титри антитіл, відповідно, коливались в межах 3,2–4,6 (РЗК) і 3,2–8,2 log2 (ІФА).

Низька ефективність РЗК визначена і по відношенню до проб крові свиней. Із 262-х проб антитіла до хламідіозного антигену виявлені лише в 24-х пробах (9,1 %), причому в невисоких титрах (1,8–3,1 log2). ІФА, відповідно, показала значно вищу результативність. Із 262-х проб сироватки крові позитивною була 151 проба (57,6 %) з величиною титрів 2,3–6,1 log2.

**Основні біологічні та імунологічні властивості штамів хламідій, виділених від великої рогатої худоби та свиней.** Для порівняльного вивчення відібрали 2 штами хламідій, виділених від великої рогатої худоби, та 2 штами, які були виділені від свиней. Зокрема, штам ВС-2099 виділили із вагінального слизу корови, що абортувала і належала СТОВ «Новоселиця» Катеринопільського району. Після відповідної обробки матеріалом заразили 6-денні курячі ембріони (КЕ) в жовтковий мішок. Стабільна загибель ембріонів відмічалась в другому пасажі на 4–6-у добу після зараження. Середньостатистичний показник загибелі КЕ в 9-му пасажі становив 4,1 доби, величина титру піднялась від 10-2,8 в 3-му пасажі до 10-5,33/0,4 мл – в 9-му пасажі. В ембріонах постійно виявляли характерні зміни: їх тулуб був у стадії набряку із значними зонами гіперемії, в шкірі голови, кінцівок мали місце розлиті крововиливи, печінка, селезінка були збільшеними. В мазках із стінок жовткового мішка, пофарбованих за Романовським-Гімза, в епітеліальних клітинах знаходили характерні структури, хламідійна природа яких визначалась за допомогою реакції імунофлуоресценції.

Штам Т-1549 виділений із внутрішніх органів та головного мозку теляти віком 4 місяці, яке належало СПП «РВД-Агро». Клінічно у теляти досить виразними були ознаки ураження органів дихання: витіки серозної рідини із носових ходів, серозно-катаральний кон’юнктивіт, кашель, субфебрильна температура тіла, збільшення скакальних суглобів. На розтині виявлено гіперемію і набряк слизової оболонки трахеї з крапковими крововиливами, розлиті крововиливи на епікарді, під капсулою нирок. В печінці – сірувато-білі дрібні вогнища некрозу, легені в стані набряку із зонами запалення; мали місце катаральний ентерит з множинними крововиливами в серозній оболонці сичуга та гіперемія судин головного мозку.

З метою виділення штаму із збірної проби патологічного матеріалу одночасно використали курячі ембріони, білих мишей та вагітних морських свинок. При зараженні курячих ембріонів у жовтковий мішок у першому пасажі загибелі ембріонів не спостерігали. В другому пасажі протягом 8,8 доби загинули всі ембріони. В наступних пасажах період загибелі ембріонів стрімко наростав і в 9-му пасажі 100 % загибель ембріонів становила 4,5 доби з величиною титру 10-5,33 ELD50/0,4 мл.

Штам А-2536 виділили із внутрішніх органів трьох абортованих плодів свиноматки. В мазках із селезінки, печінки плодів та трансудату черевної порожнини, забарвлених методами Стемпа і Романовського-Гімза, виявлено структури, характерні для хламідій, проте їх кількість була незначною, внаслідок чого інформативність методів оцінювалась як обмежена (++).

При постановці РІФ з міченою діагностичною антихламідійною сироваткою, одержали чіткий позитивний результат. При зараженні курячих ембріонів у жовтковий мішок у 2-му пасажі загинуло 80 % КЕ, всі ембріони гинули вже в 3-му пасажі. В 6-му пасажі середньостатистичний період загибелі становив 4,2 доби з титром 10-4,16 ELD50/04 мл.

Штам ДС-2562, виділений із внутрішніх органів, лімфатичних вузлів та головного мозку свинки, яка загинула і належала СТОВ «Богодухівське» Чорнобаївського району. Схема виділення була аналогічною попереднім штамам. Всього проведено 11 пасажів на КЕ, причому титр штаму в останньому пасажі досяг величини 10-6,3 ELD50/0,4 мл. На підставі проведеного ПЛР-аналізу всі виділені штами хламідій належали до роду Chlamydophila.

З метою визначення **спектра патогенності** виділеними штамами хламідій заражали молодих білих мишей інтрацеребрально, в черевну порожнину, інтраназально та інтраторакально. На кожне зараження використовували 4–6 тварин. Вагітних морських свинок заражали в черевну порожнину по 4 голови на штам. За зараженими тваринами спостерігали 12–24 доби.

Встановлено, що в 1-му пасажі патогенними для білих мишей були лише штами, виділені від великої рогатої худоби, які викликали загибель мишей в кількості 25 % при інтраторакальному та внутрішньочеревному зараженнях. З метою адаптації штамів до організму білих мишей проводили 4–8 послідовних пасажів. 100 % загибелі тварин відносно всіх штамів досягли при зараженні в черевну порожнину в 5–8 пасажах. Штами, виділені від свиней, викликали 100 % летальність при інтраторакальному зараженні, починаючи з 5-го пасажу, в той час як штами ВС-2099 і Т-1549 при аналогічному зараженні викликали загибель мишей лише в кількості 50–75 %.

У вагітних морських свинок всі штами викликали аборти та мертво народження, починаючи з 1–2-го пасажів. 100 % кількість абортів у 1 пасажі викликав лише штам Т-1549, в той час як решта штамів досягала цього показника лише після 2–5-го пасажів.

Клінічні ознаки у заражених морських свинок у вигляді пригнічення, зменшення апетиту з’являлись на 5–11-у добу після зараження. Аборти та мертвонародження наставали на 12–19-у добу після зараження, в подальших пасажах цей період зменшувався до 5–6 діб. Летальність у морських свинок становила 30–40 %.

Абортовані плоди постійно були збільшеними за рахунок набряку шкіри і підшкірної клітковини, в яких виявляли значні геморагічні ділянки. У черевній і грудній порожнинах знаходилась червонувата рідина, серозні оболонки кишечника, внутрішніх органів вкриті нашаруванням з нитками фібрину, печінка і селезінка збільшені. Типовими були також серозно-фібринозний перикардит і плеврит.

Окрім білих мишей і морських свинок, у процесі визначення спектра патогенності виділених штамів провели експеримент по **зараженню поросят-гнотобіотів.** При цьому використали штам А-2536, виділений із абортованих плодів свиноматки.

За весь період спостережень виразних клінічних ознак захворювання у поросят не відмічалось. Періодично у тварин знижувався апетит, вони були дещо пригніченими. Лише у одного поросяти хвороба проявилась гостро і воно загинуло на 21-у добу після зараження.

У більшості заражених тварин з 8-ї по 19-у добу від початку експерименту субфебрильно підвищувалась температура тіла, у інших вона була нормальною і навіть мала тенденцію до деякого зниження від фізіологічної норми.

Не зважаючи на невиразний клінічний прояв хвороби, при патолого-анатомічному розтині трупа поросяти, що загинуло, та решти тварин, забитих на 35-й день експерименту, у внутрішніх органах, кишківнику та лімфатичних вузлах виявили зміни, що давали підставу говорити про позитивні результати експерименту. У тварин контрольної групи будь-які зміни були відсутні.

У матеріалах від заражених і контактних поросят наявність хламідій була підтверджена як методами ПЛР, РІФ, так і виділенням збудника на курячих ембріонах, білих мишах і морських свинках. З матеріалами контрольних поросят одержали негативні результати.

**Імунологічну характеристику** виділених штамів хламідій вивчали в дослідах перехресного зараження білих мишей, яких попередньо імунізували відповідними штамами хламідій. Інактивацію біомаси хламідій здійснювали за методикою Ф.М. Хусаинова (2007). Після закінчення циклу імунізації мишей заражали активними штамами хламідій, які викликали 100 % загибель тварин після зараження в черевну порожнину. Контрольним не імунізованим мишам вводили відповідні штами в черевну порожнину.

Інактивовані штами хламідій зберігали імунізуючу активність і сприяли виживанню білих мишей, заражених гомологічними (тими, які використані для імунізації) штамами в кількості 75–83,3–100 %. Відносно до гетерологічних штамів кількість мишей, що вижили, становила переважно 33,3–66,6 %. Досить низьким був показник (16,6 %) збереження мишей після імунізації штамом ДС-2562 і заражених штамом ВС-2099.

Штам ВС-2099, виділений із вагінального слизу корови, яка абортувала, за антигенними характеристиками був наближеним до штаму Т-1549, виділеного із внутрішніх органів теляти, хворого на пневмонію. Зокрема, миші, імунізовані штамом Т-1549, після зараження штамом ВС-2099 виживали в кількості 83,3 %.

Штами А-2536 і ДС-2562, виділені від свиней, були наближеними, але показали значну віддаленість від штамів великої рогатої худоби. Миші, імунізовані штамом А-2536, виживали після зараження штамом ВС-2099 лише в кількості 33,3 % порівняно з показником 75 % після зараження гомологічним штамом А-2536.

Всі контрольні, не імунізовані групи мишей, гинули у визначені терміни.

При порівнянні штамів хламідій **в реакції нейтралізації (РН)** з використанням гіперімунних півнячих гомологічних та гетерологічних сироваток результати були близькими до тих, які одержали в дослідах перехресного зараження активно імунізованих білих мишей. Зокрема, виділені від свиней штами ДС-2562 і А-2536 нейтралізувались гіперімунною сироваткою проти штаму ДС-2562 з виживанням білих мишей в кількості 83,3–100 %, відповідно, що свідчить про їх імунологічну близькість, якщо не ідентичність. Ця ж гіперімунна сироватка незначно нейтралізувала штами Т-1549 і ВС-2099, виділені від великої рогатої худоби. При цьому відсоток виживання мишей коливався в межах 33,3–50 %, що свідчить про віддаленість названих штамів від тих, які були виділені від свиней.

Слід зауважити, що додавання комплементу в кількості 2 ОД до гіперімунних сироваток певною мірою підвищувало їх нейтралізуючу активність. Зокрема, сироватка проти штаму ДС-2562 без комплементу забезпечувала виживання білих мишей, заражених гомологічним штамом ДС-2562, в кількості 83,3 %, а при додаванні комплементу – навіть проти гетерологічного штаму Т-1549. Виживання білих мишей, відповідно, становило 33,3 % без комплементу і 50 % – з комплементом.

У контрольних групах, заражених чистими штамами хламідій, а також штамами з комплементом, всі миші гинули у визначені терміни. В інших групах, заражених роздільно комплементом або гіперімунною сироваткою, всі тварини залишались живими.

Сума **економічних збитків** від хламідіозу свиней в одному із господарств Чорнобаївського району від загибелі, вимушеного забою, недоодержання приплоду та зниження продуктивності тварин становила за рік 168 214,84 грн.

**ВИСНОВКИ**

1. У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, що виявляється у встановленні наявності хламідіозу серед великої рогатої худоби і свиней, інших видів тварин у господарствах Черкаської області на підставі проведеного епізоотологічного моніторингу та результатів комплексних лабораторних досліджень. Визначено діагностичну цінність клініко-епізоотологічних та патолого-анатомічних даних, оцінені методи діагностики хламідіозу з використанням світлової, люмінесцентної мікроскопії, серологічних реакцій, розроблено удосконалений варіант реакції імуноферментного аналізу (ІФА). Вивчено імунологічні, загальнобіологічні властивості виділених штамів хламідій, здійснено їх ідентифікацію з використанням полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та реакції імунофлуоресценції (РІФ).

2. Із епізоотологічних особливостей для хламідіозу тварин в умовах Черкаської області характерно: інфекція уражає всі вікові і статеві групи тварин, між якими чітко простежується міжвидова передача. Доведена можливість виникнення природних вогнищ хламідіозу, стаціонарність яких підтримується голубами та деякими видами диких тварин (косулі, дикі свині). Із організму хворих тварин збудник виділяється через шлунково-кишковий тракт, з бронхіальним, вагінальним та кон’юнктивальним слизом, абортованими плодами, молоком, спермою плідників. Зараження тварин відбувалось через інфіковані корми, повітря, воду, предмети догляду, аліментарним, аерогенним, статевим та контактним шляхами.

3. Хламідіоз проявляється як змішана інфекція, одночасно з хламідіями виділялись ротаві руси, вірус ІРТ, парагрипу-3. Змішаний характер інфекції підтверджувався вірусологічними і серологічними дослідженнями. При дослідженні парних сироваток титри антитіл до названих збудників підвищувались в діагностично достовірних величинах.

4. Клінічні ознаки та патолого-анатомічні зміни при хламідіозі у великої рогатої худоби та свиней наближені за системністю ураження організму, інфекція може проявлятись у генітальній, респіраторній, нервовій і змішаній формах, виразність яких знаходиться в прямій залежності від інтенсивності прояву патологічних процесів. При гострій формі хвороба проявляється клінічними ознаками, які зтушовуються при хронічній формі і не проявляються при латентній формі. Такий стан необхідно враховувати при комплексній діагностиці хламідіозу, розцінюючи клініко-епізоотологічні та патолого-анатомічні дані як передмову до постановки діагнозу, остаточний висновок відносно якого здійснюється після проведення лабораторних досліджень.

5. При порівняльній характеристиці методів, які використовують для виявлення хламідій, встановлено, що метод Романовського-Гімза знаходить внутрішньоклітинні структури хламідій, проте показав низьку інформативність при виявленні позаклітинно розташованих хламідій, які можуть бути подібними до різних клітинних елементів, у мазках із стінки жовткового мішка курячих ембріонів. Більш результативні методи Стемпа і Маккіавелло, при яких хламідії і різні можливі артефакти фарбуються диференційовано.

6. Реакція імунофлуоресценції (РІФ) дозволяє швидко виявити та ідентифікувати хламідії за рахунок високої її специфічності. Провідного діагностичного значення набуває полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), яка дозволяє дати позитивний висновок відносно хламідіозу за наявності мінімальної кількості збудника в досліджуваному матеріалі та визначити його не тільки рід, але й вид.

7. Порівняльна оцінка серологічних методів діагностики хламідіозу показала низьку чутливість реакції зв’язування комплементу (РЗК) порівняно до реакцій РНГА та ІФА. Зокрема, при дослідженні 4990 проб сироватки крові великої рогатої худоби позитивними в РЗК виявились лише 350 (7 %) проб, в ІФА – 67,3 % проб. Граничні титри антитіл в РЗК також були відносно низькими (5-6 log2), на фоні до 8 log2 в ІФА та РНГА. При дослідженні 2541 проби сироватки крові свиней позитивними в РЗК виявились лише 3,0 % проб, у той час як у РНГА позитивних проб було 21,52 %, в ІФА – 24,3 %.

8. Удосконалено лабораторну діагностику хламідіозу сільськогоспо-дарських тварин. Результати досліджень використані в процесі конструювання тест-системи «ІФА Chlamyliso test AB», яка впроваджена в практику ветеринарної медицини України. Нами виділено штам хламідій, який використали для приготування антигену, одержали позитивну хламідіозну і негативну сироватки. Система пройшла виробниче випробування в ряді обласних лабораторій ветеринарної медицини України і рекомендована для практичного використання. На одержану систему розроблено технічні умови ТУУ 24.4-23524007-066:2006.

9. Від великої рогатої худоби і свиней виділено по 2 штами хламідій, ідентифікація яких здійснювалась за морфологічними, культуральними і антигенними характеристиками з використанням прямого варіанта РІФ. За даними ПЛР-аналізу штами належать до роду Chlamydophila. Штами серійно культивувались у жовтковому мішку курячих ембріонів, середньостатистична загибель яких коливалась в межах 4,1–4,5 діб. Титр штамів наростав з пасажами і становив для штамів ВС-2099 і Т-1549 в 9-му пасажі 10-5,5 і 10-5,33 ELD50/0,4 мл, відповідно; для штаму А-2536 в 6-му пасажі 10-4,16 ELD50/0,4 мл; для штаму ДС-2562 в 11 пасажі – 10-6,3 ELD50/0,4 мл.

10. При різних способах зараження білих мишей виділені штами хламідій в 1-му пасажі практично не викликали загибелі тварин і 100 % летальність наставала тільки в 5–8-му пасажах після зараження в черевну порожнину або інтраторакально. Білі миші проявляли відносну резистентність до інтрацеребрального зараження, при якому загибелі не спостерігалось в 1-му пасажі, але летальність поступово наростала в наступних пасажах. У вагітних морських свинок штам Т-1549 після зараження в черевну порожнину викликав аборти вже в 1-му пасажі, решта штамів абортогенність проявляли в наступних пасажах. Летальність морських свинок становила 30–40 %.

11. При визначенні імунологічних властивостей штамів хламідій в дослідах перехресного зараження білих мишей, які попередньо були імунізовані цими штамами, встановлена спорідненість штамів ВС-2099 і Т-1549, виділених від великої рогатої худоби, в той час як штами А-2536 і ДС-2562, виділені від свиней, виявились між собою наближеними, але значно віддаленими від штамів великої рогатої худоби. Аналогічні результати були одержані і при постановці реакції нейтралізації на білих мишах з використанням сироватки крові півнів, гіперімунізованих названими вище штамами.

12. При зараженні штамом А-2536 3-х груп поросят-гнотобіотів різними способами відмічали зниження апетиту, незначне пригнічення, субфебрильна температура тіла. В одного поросяти хвороба проявилась гостро і воно загинуло на 21-шу добу. Позитивність експерименту підтверджувалась патолого-анатомічними змінами, наявністю в них хламідій, виявлених мікроскопічними методами, ПЛР, РІФ, виділенням хламідій на курячих ембріонах, білих мишах і морських свинках.

**ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. Діагностику хламідіозу сільськогосподарських тварин здійснювати з використанням комплексних досліджень, в яких на підставі клініко-епізоотологічних та патолого-анатомічних даних ставиться попередній діагноз.

2. При проведенні лабораторних досліджень з метою виявлення збудника безпосередньо в патологічному матеріалі використовувати в першу чергу реакцію імунофлуоресценції (РІФ) та полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР). Методам світлової мікроскопії з фарбуванням препаратів за Романовським-Гімза, Стемпом, Маккіавелло відводиться другорядне значення.

3. При проведенні серологічної діагностики сироватку крові досліджувати з використанням непрямої гемаглютинації (РНГА) та імуноферментного аналізу (ІФА). Реакцію зв’язування комплементу (РЗК), як низькочутливу, рекомендуємо ставити лише при дослідженні сироватки крові великої рогатої худоби.

4. При постановці реакції ІФА доцільно використовувати набір компонентів «Chlamyliso test AB», розроблений колективом співробітників НАУ з нашою участю. Запропонований варіант ІФА є уніфікованим і дозволяє досліджувати сироватку крові всіх сільськогосподарських тварин на тій підставі, що в реакції використано рекомбінантний білок G мічений пероксидазою, який здатний зв’язуватись з широким спектром Іg G ссавців. На одержану систему розроблено ТУУ 24.4-23524007-066:2006. Система пройшла виробничі випробування.

5. При проведенні комплексної діагностики на хламідіоз використовувати «Настанову із лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин», розробленої за нашою участю і затверджену Департаментом ветеринарної медицини МінАПК України.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Неволько О.М. Економічні збитки при хламідіозі свиней / Неволько О.М. – Вет. біотехнол.–2008.–№12.–С.130–133.
2. Бортнічук В.А. Діагностичне значення реакції зв’язування комплементу (РЗК) при хламідіозі тварин / Бортнічук В.А., Неволько О.М., Хамко О.П. – Збірник наукових праць Луганського Національного аграрного університету.–2007.–№78/101.–С.68–72. *(Здобувач провів дослідження з метою порівняльної оцінки серологічних методів діагностики хламідіозу, статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
3. Бортнічук В.А. Хламідіоз великої рогатої худоби / Бортнічук В.А., Неволько О.М. – Сучасна вет. медицина.–2007.–№2.–С.22–23. *(Здобувач вивчив джерела та форми хламідіозу великої рогатої худоби та основні причини його виникнення, визначив діагностичну цінність клініко-епізоотологічних та патолого-анатомічних даних, лабораторних досліджень, провів статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
4. Неволько О.М. Діагностика хламідіозу у тварин різних видів залежно від форми прояву інфекції / [Неволько О.М., Хамко О.П., Бортнічук В.А., Чумак Р.М.] – Науковий вісник Національного аграрного університету.–2007.–№108.–С.240–244. *(Здобувач провів клінічний огляд, патолого-анатомічний розтин, дослідив патологічний матеріал методами світлової і люмінесцентної мікроскопії, провів статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
5. Неволько О.М. Хламідіоз свиней у Черкаській області: особливості прояву та діагностика / Неволько О.М., Хамко О.П. – Вет. біотехнол.–2006.–№9.–С.189–195. *(Здобувач провів дослідження з метою визначення оптимальних методів лабораторних досліджень, провів статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
6. Чумак Р.М. Застосування модифікованого імуноферментрного аналізу (на основі рекомбінантного білку G Streptococcus sp.) для діагностики хламідіозу у сільськогосподарських тварин з господарств Черкаської області / [Чумак Р.М., Бортнічук В.А., Рибальченко Д.Ю, Мартиненко Д.Л., Неволько О.М., Хамко О.П.] – Вет. біотехнол.–2007.–№11.–С.237–243. *(Здобувач брав участь у розробці тест-системи «ІФА Clamyliso test AB», провів експериментальні дослідження, порівняв результати з реакцією зв’язування комплементу, провів статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
7. Неволько О.М. Діагностичне значення клініко-епізоотологічних та патолого-анатомічних даних при хламідіозі сільськогосподарських тварин / Неволько О.М., Хамко О.П., Бортнічук В.А. – Вет. біотехнол.–2007.–№11.–С.129–133. *(Здобувач провів епізоотичне обстеження господарств, порівняв клініко-епізоотологічні, патолого-анатомічні дані при хламідіозі у різних видів тварин, провів статистичну обробку одержаних результатів, підготував роботу до друку).*
8. Ксьонз І. Штучне відтворення хламідіозу в лабораторному досліді на поросятах-гнотобіотах / [Ксьонз І., Курман А., Хандкарян В., Скрипка М., Неволько О.] – Вет. мед. України.–2008.–№4.–С.38–40. *(Здобувач виділив польові ізоляти збудника хламідіозу, провів лабораторні дослідження патологічного матеріалу від поросят-гнотобіотів, узагальнив одержані результати, підготував роботу до друку).*
9. Неволько О. Міжвидова передача хламідіозу тварин / Неволько О., Хамко О., Бортнічук В. – Вет. мед. України.–2007.–№2.–С.6–7. *(Здобувач підтвердив можливість міжвидової передачі хламідіозу, виділив культуру хламідій, проаналізував матеріали, підготував роботу до друку).*

**Неволько О.М. Порівняльна характеристика методів діагностики та їх удосконалення при хламідіозі сільськогосподарських тварин. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.03 – ветеринарна мікробіологія та вірусологія. – Національний аграрний університет, Київ, 2008.

Встановлена наявність хламідіозу у більшості районів Черкаської області, в першу чергу, серед великої рогатої худоби та свиней. Підтверджена можливість міжвидової передачі хламідіозу, створення його природних вогнищ, стаціонарність в яких підтримується синантропною птицею, особливо голубами, та деякими видами диких тварин (косулі, дикі кабани). Визначені шляхи виділення хламідій із організму та фактори його передачі.

Клініко-епізоотологічні та патолого-анатомічні дані при хламідіозі самостійного діагностичного значення не мають, але обов’язково враховуються в процесі комплексної діагностики з проведенням лабораторних досліджень.

Критично оцінені діагностичні методи світлової та люмінесцентної мікроскопії, визначені можливі артефакти, на які потрібно звертати увагу при прямому дослідженні препаратів на хламідіоз. Особливої діагностичної цінності при цьому надається реакції імунофлуоресценції (РІФ) та полімеразно-ланцюговій реакції (ПЛР).

Доведена відносно низька чутливість реакції зв’язування комплементу (РЗК) при серологічній діагностиці хламідіозу на фоні високочутливих реакції непрямої гемаглютинації (РНГА) та реакції імуноферментного аналізу (ІФА). Так, при дослідженні 4990 сироватки крові великої рогатої худоби позитивними в РЗК виявились лише 330 проб (7 %), в ІФА – 67,3 % проб. Граничні титри антитіл у РЗК становили 5–6 log2, в ІФА – до 8 log2, в РНГА – до 10 log2.

Розроблено уніфікований варіант ІФА, в якій антивидова сироватка замінена на рекомбінантний білок G, аналог мембранного білка Streptococcus sp., міченого пероксидазою. На одержану систему розроблено і затверджені технічні умови ТУУ 24.4-23524007-066:2006.

Від великої рогатої худоби і свиней виділено 4 штами хламідій, у яких вивчені основні біологічні та імунологічні властивості. На підставі проведеного ПЛР-аналізу штами належать до роду Chlamydophila.

При зараженні поросят-гнотобіотів одним із виділених штамів хламідій одержали не типовий прояв хвороби, проте позитивність біопроби підтвердилася виявленням хламідій в мазках із внутрішніх органів методами РІФ, ПЛР та виділенням хламідій на курячих ембріонах, білих мишах і морських свинках.

Матеріали дисертації частково використані при написанні «Настанови з лабораторної діагностики хламідійних інфекцій сільськогосподарських тварин», затвердженої Департаментом ветеринарної медицини МінАПК України.

**Ключові слова:** хламідіоз, діагностика, серологічні реакції, штами хламідій.

**Неволько О.М. Сравнительная характеристика методов диагностики и их усовершенствование при хламидиозе сельскохозяйственных животных. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03 – ветеринарная микробиология и вирусология. – Национальный аграрный университет, Киев, 2008.

Наличие хламидиоза на территории Черкасской области определено в большинстве районов преимущественно среди крупного рогатого скота и свиней. Подтверждена возможность межвидовой передачи инфекции с созданием её естественных очагов, стационарность в которых поддерживается, в первую очередь, синантропной птицей, особенно голубями, а также некоторыми дикими животными (косули, дикие свиньи).

Из организма больных животных возбудитель выделяется через желудочно-кишечный тракт, с бронхиальной, конъюнктивальной, вагинальной слизью, абортированными плодами, молоком, спермой производителей. Заражение животных происходит через инфицированные корма, воздух, воду, предметы ухода, алиментарным, аэрогенным, половым и контактным путями.

Клинико-епизоотологические и патолого-анатомические данные при хламидиозе самостоятельного диагностического значения не имеют, но обязательно учитываются в процессе комплексной диагностики с проведением лабораторных исследований.

Критически оценена диагностическая значимость методов световой и люминесцентной микроскопии, определенные возможные артефакты, на которые необходимо обращать внимание при прямом исследовании препаратов. Особую диагностическую ценность имеют реакция иммунофлуоресценции (РИФ) и полимеразная цепная реакция (ПЦР), которые способны подтвердить хламидиозную природу выявлением микроорганизмов. Показана относительно низкая чувствительность реакции связывания комплемента (РСК) при серологической диагностике хламидиоза на фоне высокочувствительных реакции непрямой гемаглютинации (РНГА) и реакции иммуноферментного анализа (ИФА). В частности, при исследовании 4990 сыворотки крови крупного рогатого скота положительными в РСК были лишь 330 проб (7 %), в то время как в ИФА количество таких проб составило 67,3 %. Предельные титры антител в РСК составили 5–6 log2, в ИФА – до 8 log2, в РНГА – до 10 log2.

Разработан унифицированный вариант ИФА, в котором антивидовая сыворотка заменена рекомбинантным белком G, аналогом мембранного белка Streptococcus sp., меченного пероксидазой и способного с высокой афинностью взаимодействовать с широким спектром иммунных глобулинов млекопитающих. Предложенная тест-система была довольно чувствительной и выявляла по сравнению с РСК значительно большее количество положительных проб сывороток крови как у крупного рогатого скота, так и свиней. Из 367-ми исследованных проб сыворотки крупного рогатого скота позитивными в РСК оказалась 161 проба (43,8 %), в ИФА – 75,4 %, причем титры антител соответственно колебались в пределах 3,2–4,6 log2 (РСК) и 3,2–8,2 log2 (ИФА). Из 262-х проб сыворотки крови свиней положительными в РСК были лишь 24 пробы (9,1 %), в ИФА – 151 проба (57,6 %). Титры антител, соответственно, составляли 1,8–3,1 log2 (РСК) и 2,3–6,1 log2 (ИФА).

На полученную систему разработаны и утверждены технические условия ТУУ 24.4-23524007-066:2006.

От крупного рогатого скота и свиней выделены 4 штамма хламидий, которые на основании ПЦР-анализа отнесены к роду Chlamydophila. Изучен спектр патогенности выделенных штаммов по отношению к белым мышам и морским свинкам. В опытах перекрестного заражения белых мышей, а также путем постановки реакции нейтрализации определены иммунологические особенности выделенных штаммов. Показана значительная отдаленность по иммунологическим характеристикам штаммов свиного происхождения от тех, которые были выделены от крупного рогатого скота.

При заражении 3-х групп поросят-гнотобиотов различными способами одним из выделенных штаммов типичного проявления хламидиоза воспроизвести не удалось, однако позитивность биопробы подтверждена патолого-анатомическим вскрытием, наличием во внутренних органах зараженных поросят хламидий (методы ПЦР, РИФ, Романовского-Гимза), а также выделением хламидий на куриных эмбрионах, белых мышах и морских свинках.

Сумма ущерба для одного из свиноводческих хозяйств, неблагополучного по хламидиозу, от падежа, вынужденного убоя животных, недополучения продукции и снижения её качества составила за год 168 тыс. 214 грн 84 коп.

**Ключевые слова:** хламидиоз, диагностика, серологические реакции, штаммы хламидий.

**Nevol'ko О. Comparative description of methods of diagnostics and their improvement at Chlamydios of agricultural animals. – Manuscript.**

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on a speciality 16.00.03 – Veterinary microbiology and virology. – National Agrarian University, Kyiv, 2008.

The presence of Chlamydios is set in most districts of the Cherkasy area above all things among a cattle and pigs. Conformation of possibility of interspecific transmission of chlamydios, creation of him, natural hearths constancy of which is supported migratory birds. Especially by pigeons, and some types of wild animals (roe deer, wild wild boars). The ways of selection of chlamydia and factors of his transmission are certain.

Kliniko-epizootological and pathoanatomical records is given at chlamydios independent diagnostic value does not have, but necessarily taken into account in the process of complex diagnostics with the leadthrough of laboratory researches.

Critically evaluation diagnostic methods of light and luminescence microscopies, the certain are possible artefakty, on which it is needed to pay attention at direct research of preparations on chlamydios. Special diagnostic value here gets an immunofluorescence ( RIF) and polymeras-chain reaction.(PLR).

The low sensitiveness of complement tying reaction is well-proven relatively (RZK) to serum diagnostics of chlamydios on a background the highly sensitive reactions of indirect hemagglutination (RIGA) and reaction of immunefermentative analysis (IFA). So, at research of a 4990 whey of cattl’s blood 330 tests (7 %) appeared in RZK positive only, there are 67,3 % tests in IFA. Were maximum titles of antibodies in RZK 5–6 log2,в of IFA – to 8 log2, in RNGA – to 10 log2.

Is the compatible variant of IFA developed, in which a antispecies whey is transferable arecombinant albumen G, by an analogue diaphragm squirrel Streptococcus Sp., marked in perocsydasa. On the got system it is developed and assertion oftechnical specifications TUU of 24.4- 23524007 -066:2006.

From a cattls and pigs are selected 4 cultures of chlamydia, what studied basic biological and immunological properties are in. On the basis of conducted PLR – cultures are attributed an analysis to the sort of Chlamydophila.

At the infection of piglits – гнотобіотів one of the selected cultures a biottest was confirmed the exposure of Chlamydia in strokes from internalss by the methods of RIF, PLR and selection of Chlamydia on chicken embryons, white mise and guinea-pigs.

Materials of dissertation are partly used for writing „Options for the laboratory diagnostics of Chlamydia infections of agricultural animals”. Conformed by Department of veterinary medicine of Mines of AIC of Ukraine.

**Key words:** сhlamydios, diagnostics, serum reactions, cultures of Chlamydia.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>