

Министерство сельского хозяйства и продовольствия
Республики Беларусь

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия
ветеринарной медицины

**Кафедра эпизоотологии
и инфекционных болезней животных**

ХЛАМИДИОЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Учебно-методическое пособие для студентов факультета
ветеринарной медицины по специальности
1-74 03 02 «Ветеринарная медицина»
и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям

Витебск
ВГАВМ
2020

УДК 619: 616.98:579.882.11
ББК 48.731.235
Х55

Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета ветеринарной медицины УО ВГАВМ от 23 апреля 2019 г. протокол № 11

Авторы:

доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор *П. А. Красочко*; доктор ветеринарных наук, профессор *В. В. Максимович*; кандидат ветеринарных наук, доцент *Н. В. Сеница*; доктор биологических наук, доцент *П. П. Красочко*; ассистент *Д. С. Конотон*; кандидат ветеринарных наук, доцент *Я. П. Яромчик*; кандидат ветеринарных наук, доцент *О. Р. Билецкий*; кандидат ветеринарных наук, доцент *Д. Д. Морозов*

Рецензенты:

доктор ветеринарных наук, профессор *А. П. Медведев*;
доктор ветеринарных наук, доцент *А. С. Ястребов*

Хламидиоз сельскохозяйственных животных : учеб. - метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины по специальности 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина» и слушателей ФПК и ПК по ветеринарным специальностям / *П. А. Красочко* [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2020. – 44 с.

В пособии освещены вопросы этиологии возбудителя хламидиоза, его свойств, представлена информация о клиническом течении, патологоанатомических признаках, диагностике и профилактике хламидиоза сельскохозяйственных животных. Учебно-методическое пособие предназначено для студентов факультетов ветеринарной медицины, слушателей факультетов повышения квалификации, практических ветеринарных специалистов, специалистов государственных ветеринарных служб, предприятий комбикормовой промышленности.

УДК 619: 616.98:579.882.11
ББК 48.731.235

© УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», 2020

ПЛАН

проведения лабораторно-практического занятия по эпизоотологии и инфекционным болезням со студентами

Тема: Хламидиоз сельскохозяйственных животных - методы диагностики и мероприятия по профилактике и ликвидации.

1. Время – 2 часа.
2. Место занятия – практикум кафедры, инфекционная клиника.
3. Цель занятия: изучить методы диагностики, профилактику и меры борьбы с хламидиозом.
4. Материальная обеспеченность занятия:
 - рисунки, фотографии, слайды;
 - компьютер;
 - видеопроектор;
 - таблицы: Лабораторная диагностика хламидиоза. Мероприятия при хламидиозе;
 - вакцины против хламидиоза;
 - видеофильм.

Методика проведения занятия и регламент

Изучаемые вопросы при проведении лабораторно-практического занятия:

- Эпизоотологический метод диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных.
- Восприимчивость разных видов животных. Источники возбудителя инфекции. Природная очаговость хламидиоза. Пути передачи возбудителя.
- Клинический метод диагностики.
- Симптомы хламидиоза у крупного рогатого скота, буйволов, диких жвачных животных. Техника безопасности при клиническом обследовании больных животных.
- Патологоанатомический метод диагностики.
- Серологические методы диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных.

Для углубленного изучения студентами данной темы и освещения запланированных вопросов при проведении лабораторно-практического занятия ниже приводятся краткие теоретические и практические сведения и основные положения нормативных документов Международного Эпизоотического Бюро и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

Хламидиоз сельскохозяйственных животных

Хламидиоз сельскохозяйственных животных - это группа болезней животных, характеризующаяся у молодняка ринитом, бронхопневмонией, гастроэнтеритом, полиартритом, кератоконъюнктивитом, энцефаломиелитом, у взрослых животных – абортами, задержанием последа, эндометритами, маститами и рождением нежизнеспособного молодняка.

Статус инфекционной болезни по МЭБ:

В соответствии с Кодексом здоровья о наземных животных Международного эпизоотического бюро (МЭБ) 2016 года (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2010 12, ruede Prony, 75017 Paris, FRANCE Telephone: 33-(0)1 44 15 18 88 Fax: 33-(0) 1 42 67 09 87 Electronic mail: oie@oie.int WWW: <http://www.oie.int>) с 1 января в список МЭБ на основании решения Всемирной Ассамблеи Делегатов включены следующие болезни.

В категорию птицы (Раздел 10 AVES) включено 9 инфекционных и инвазионных болезней, в том числе Глава 10.1. – Хламидиоз; в категорию овцы (Раздел 14 CAPRINAE) включено 9 инфекционных и инвазионных болезней, в том числе Глава 14.4. - Инфекция *Chlamydophila abortus* (энзоотический аборт овец, или хламидиоз овец).

Историческая справка.

Впервые хламидиоз как болезнь был описан немецким ученым Юргенсоном в 1874 году у попугаев. В 1879 году швейцарский ученый Риттер установил связь заболевания людей с болезнью попугаев, завезенных из Южной Америки. После завоза из Южной Америки в Европу и Северную Америку попугаев, у людей стали периодически возникать вспышки пневмоний.

Впервые аборт коров, вызванный возбудителем «попугайной болезни» (хламидиоза), описали Traum и Hart в 1923 году в Калифорнии, а в 1956 году Schoor и Kauker доказали серологически и цитологически хламидийную этиологию аборта. Впервые выделил возбудителя из абортированных плодов Giroud в 1957 году во Франции. В Советском Союзе хламидиозный аборт коров, на основании серологических исследований, был зарегистрирован в 1967 году Терских И.И. и Курбановым И.А., а в 1973 году Курбановым из абортированного плода был выделен возбудитель хламидиоза (штамм 250). Бончев Н. и другие в 1963 году в Болгарии выделили хламидий от телят, больных бронхопневмонией. В СССР впервые выделил хламидий от телят, больных бронхопневмонией, Гаффаров Х.З. в 1969 году. Хламидиозный энцефаломиелит телят впервые описал McNutt в США в 1940 году. Хламидиозный полиартрит впервые описан в 1961 году в Австралии ученым Литтлджонсом.

Экономический ущерб складывается из резкого снижения молочной продукции, качества молока и кожевенного сырья, потери живой массы, абортов и мертворожденности, бесплодия, в отдельных случаях - гибели животных от условно-патогенной микрофлоры, затрат на лечение и

проведение ветеринарно-санитарных мероприятий.

Этиология. Таксономия хламидий в конце 20 века была основана на анализе отдельных фенотипических, культуральных и морфологических признаков. Открытие новых микроорганизмов с характерным для хламидий циклом развития параллельно с исследованиями генома ранее известных представителей рода *Chlamydia* привело к необходимости пересмотра классификации и номенклатуры порядка *Chlamydiales*.

В соответствии с этими критериями семейство *Chlamydiaceae*, которое ранее включало только один род *Chlamydia*, было разделено на два рода: *Chlamydia* и *Chlamydophila*. Недавно описанные «хламидиеподобные» бактерии вошли в состав трех новых семейств: *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae* и *Waddliaceae* порядка *Chlamydiales*.

Согласно определению, предложенному К.Д.Е. Everett (1999), «порядок *Chlamydiales* включает облигатных внутриклеточных бактерий, которые имеют сходный с хламидийным цикл развития, характеризуются наличием грамположительных или грамотрицательных инфекционных элементарных телец (ЭТ) и обладают >80% уровнем гомологии по последовательности 16S и 23S рРНК генов».

Порядок *Chlamydiales* включает семейство *Chlamydiaceae*, а также представленные единичными видами семейства *Simkaniaceae*, *Parachlamydiaceae* и *Waddliaceae* (рисунок 1). Однако, поскольку новые группы в настоящее время включают небольшое количество видов, решение относительно того, должны ли *Chlamydiales* становиться классом или оставаться порядком, по мнению К. Everett, «может быть отложено до получения большей информации о новых группах хламидий».

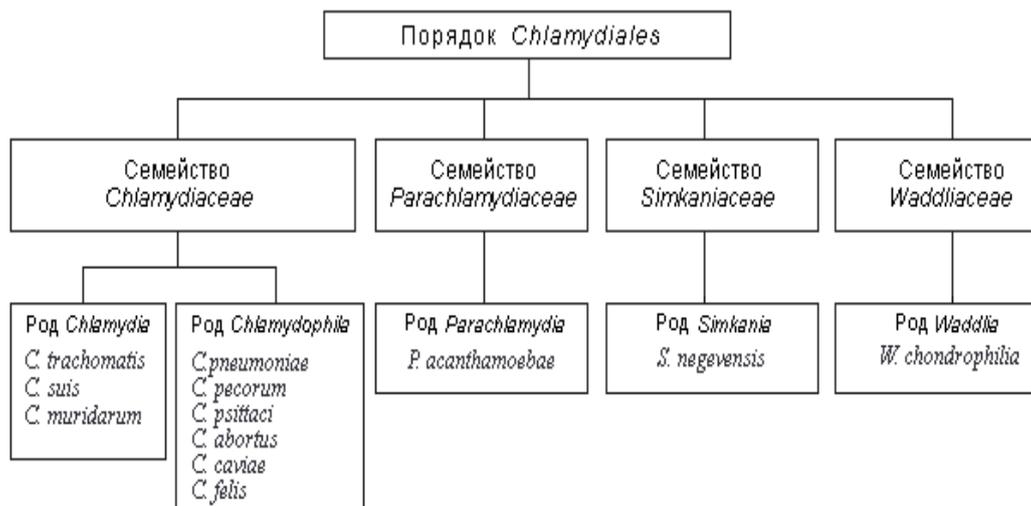


Рисунок 1 - Таксономия *Chlamydiales* (К.Д.Е. Everett, 1999)

В 2015 году таксономия семейства *Chlamydiaceae* было пересмотрено (Sachse et al., 2015). Таксономически семейство *Chlamydiaceae* включает группу грамотрицательных, облигатных внутриклеточных бактерий в пределах одного рода *Chlamydia*, который включает одиннадцать видов: *C. trachomatis* (люди), *C. suis* (свиньи), *C. muridarum* (мышь и хомяк), *C. psittaci* (avian), *C. felis* (cat),

C. abortus (овцы, козы и крупный рогатый скот), *C. caviae* (морская свинка), *C. pecorum* (овцы, крупный рогатый скот и коала), *C. pneumoniae* (люди), *C. avium* и *C. gallinaceae* (оба у птиц) (Sachseetal., 2015), а также два вида *Candidatus Chlamydiaibidis* и *Candidatus Chlamydiasanzinia* (Taylor-Brownetal., 2016; Vorimoreetal., 2013).

Ch. trachomatis является исключительно паразитом человека. Различные штаммы *C. trachomatis* способны вызывать трахому, урогенитальные заболевания, некоторые формы артрита, конъюнктивит и пневмонию у новорожденных. 18 сероваров *C. trachomatis* объединены в два биовара: трахома (серовары А-К, Ва, Да и Ia) и лимфогранулемавенерум (LGW серовары L1, L2, L2a и L3).

Ch. suis (от лат. род. *Sus*) впервые была выделена у свиньи (*Sus scrofa*). Различные штаммы *C. suis* вызывают конъюнктивит, энтерит и пневмонию у животных и характеризуются повышенной резистентностью к сульфадиазину и тетрациклину.

Ch. muridarum (от лат. сем. *Muridae*), ранее рассматриваемый как третий биовар *C. trachomatis*, является возбудителем заболеваний грызунов семейства *Muridae*. Два штамма этого рода выделены у мышей и хомяков.

Ch. psittaci включает штаммы, для которых основными хозяевами являются птицы. Все эти штаммы могут передаваться человеку, вызывая пситтакоз. *C. psittaci* включает 8 сероваров, многие из которых могут паразитировать у нескольких видов птиц.

Ch. felis (от лат. род. *Felis*) вызывает риниты и конъюнктивиты у домашних кошек (*Felis catus*). В ряде случаев у людей отмечались зоонозные инфекции *C. felis*, проявлявшиеся в виде конъюнктивита.

Ch. abortus названа по основному симптому, вызываемому этим возбудителем. Этот вид распространен среди жвачных животных и в основном колонизирует плаценту. Спорадические аборт, которые были вызваны *C. abortus*, наблюдались у женщин, работавших с овцами.

Ch. caviae (от лат. род. *Cavia*) впервые выделена из конъюнктивы гвинейской свиньи (*Cavia cobaya*) и впоследствии описана у нескольких животных данного вида. В лабораторных условиях было показано, что *C. caviae* способна вызывать инфекции половых органов, сходных по проявлениям с аналогичными заболеваниями у человека. *C. caviae*, вероятно, является эндемичным возбудителем для *Cavia cobaya*, преимущественно колонизирует слизистый эпителий и не является инвазивной для других млекопитающих.

Ch. pecorum является исключительно возбудителем заболеваний животных. Несколько штаммов *C. pecorum* выделены у сумчатых (коала), жвачных млекопитающих и свиньи. У коал этот возбудитель вызывает бесплодие, заболевания мочевыводящей и репродуктивной систем.

Ch. pneumoniae рассматривается в основном как респираторный возбудитель. Этот вид имеет три биовара: TWAR, название которого произошло от слияния двух первых букв в обозначении штаммов, выделенных у людей, - TW-183 и AR-39, коала (Koala) и конский (Equine), названия которых связаны с источником выделения штаммов.

В то время как большинство этих организмов имеют высокую специфичность для хозяина, *C. pneumoniae* и *C. psittaci* имеют более широкий диапазон хозяев. Сообщается, что последний встречается не только у птиц и людей, но также и крупного рогатого скота, овец, свиней, лошадей и других животных.

До недавнего времени *C. psittaci* считался единственным возбудителем заболевания у птиц. Первоначально названный *psittacosis*, термин *ornithosis* был введен позже, чтобы дифференцировать заболевание у домашней птицы и дикой птицы от болезни у птиц пситтацина. В настоящее время два синдрома считаются одинаковыми (Andersen & Vanrompaey, 2008). Их раннее разделение было основано на предположении, что у людей орнитоз был более мягким чем пситтакоз. Большинство хламидий, поражающих животных, обладают тканевым тропизмом, но не обладают хозяиноспецифичностью.

Большинство штаммов рода *Chlamydia* обладают сходными по структуре экстрахромосомными элементами. Важнейшей фенотипической особенностью представителей этого рода является способность накапливать гликоген во включениях. Разные штаммы рода *Chlamydia* могут образовывать различные по морфологии включения и отличаются по уровню резистентности к сульфадиазину.

Возбудитель неподвижен, спор и капсул не образует, грамтрицателен. В настоящее время разработан и предложен ряд методов окраски хламидий. Наиболее практически приемлемыми и употребляемыми являются методы окраски по Стемпу, Маккиавелло, Романовскому-Гимзе (рисунок 2).

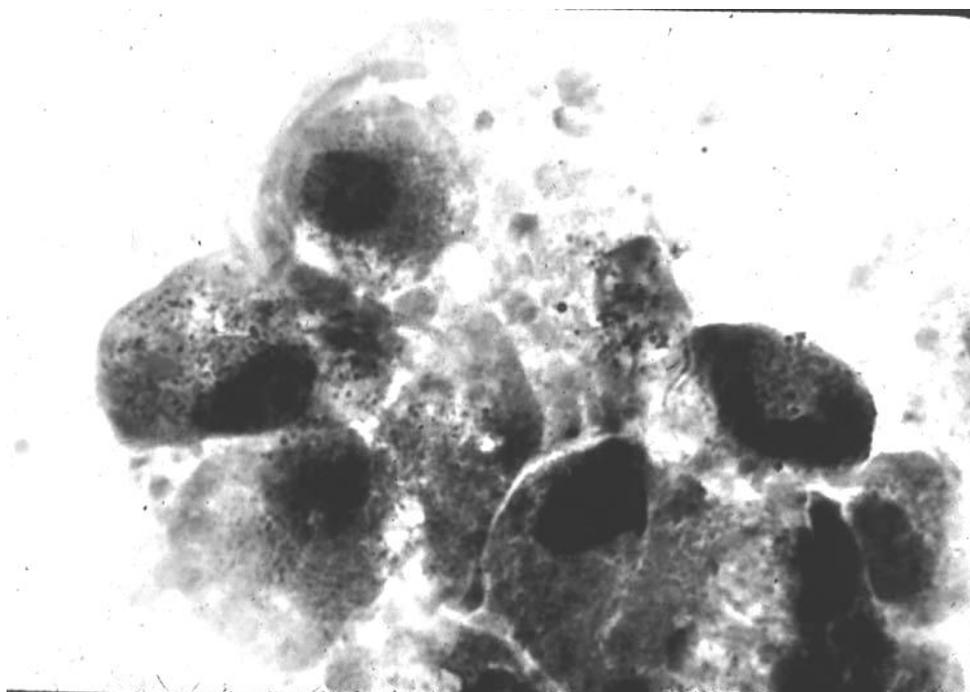


Рисунок 2 – Хламидии под световым микроскопом (Dr. JAW (Koos) Coetzer, U of Pretoria, South Africa © Cornell Veterinary Medicine)

Хламидии имеют уникальный цикл развития (рисунок 3). Они могут существовать в виде ретикулярных телец, которые не превышают в диаметре

1,2 мкм, а средний диаметр наиболее многочисленных и опасных в плане заражения промежуточных телец хламидий составляет 0,3–0,4 мкм, то есть размеры их соизмеримы с крупными вирусами.

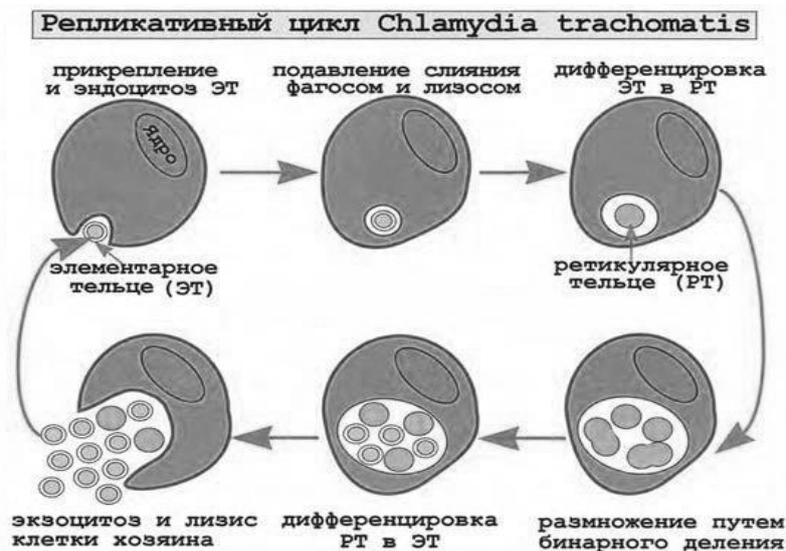


Рисунок 3 - Цикл развития хламидий

Самые высоко инфекционные формы хламидий (элементарные тельца) – это мелкие сферические клетки диаметром 0,25–0,3 мкм. Элементарные тельца являются внеклеточной формой существования, а ретикулярные (инициальные) тельца – внутриклеточной формой, имеющие структуру типичных грамотрицательных бактерий (рисунок 4).

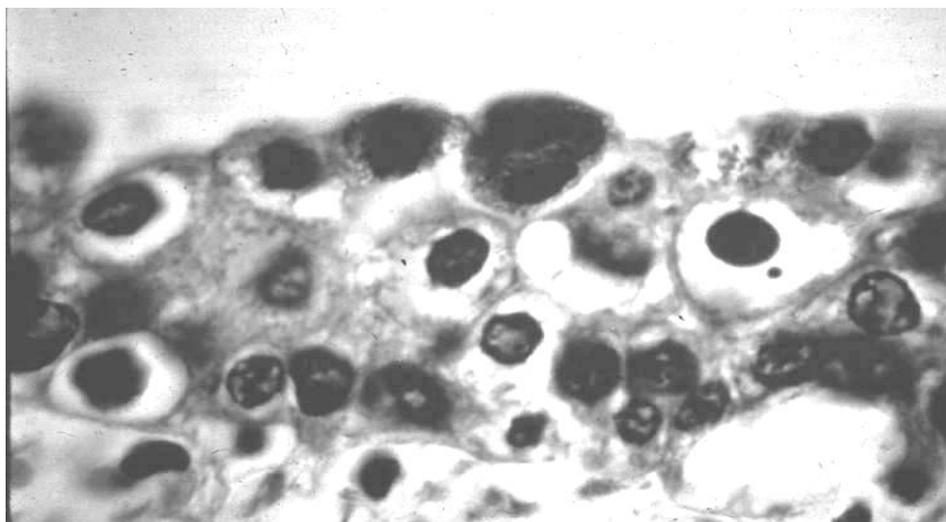


Рисунок 4 - Элементарные и инициальные тельца в трофобластах овечьего эмбриона (КМ 14-58 © Cornell Veterinary Medicine)

Несмотря на то, что хламидии отнесены к царству *Procariotae*, особенности биологических свойств (культивирование на 6-7-дневных куриных эмбрионах, культуре клеток) сближают их с вирусами. В своем составе они содержат ДНК и РНК (чем существенно отличаются от вирусов), около 40%

липидов, 35% белка, соляную и фолиевую кислоты, имеют несколько автономных ферментных систем. Размножаясь в цитоплазме живых клеток, они образуют мембранно-ограниченные цитоплазматические включения, состоящие из микроколоний (1-12 мкм в диаметре), которые, распадаясь, высвобождают сотни элементарных телец.

Морфология хламидий (рисунок 5) зависит от цикла их развития, который складывается из следующих этапов:

- адсорбция элементарных телец на оболочке клетки и их фагоцитоз;
- трансформация элементарных телец в инициальные тельца;
- деление ретикулярных телец с образованием промежуточных форм хламидий;
- созревание промежуточных форм до элементарных телец.

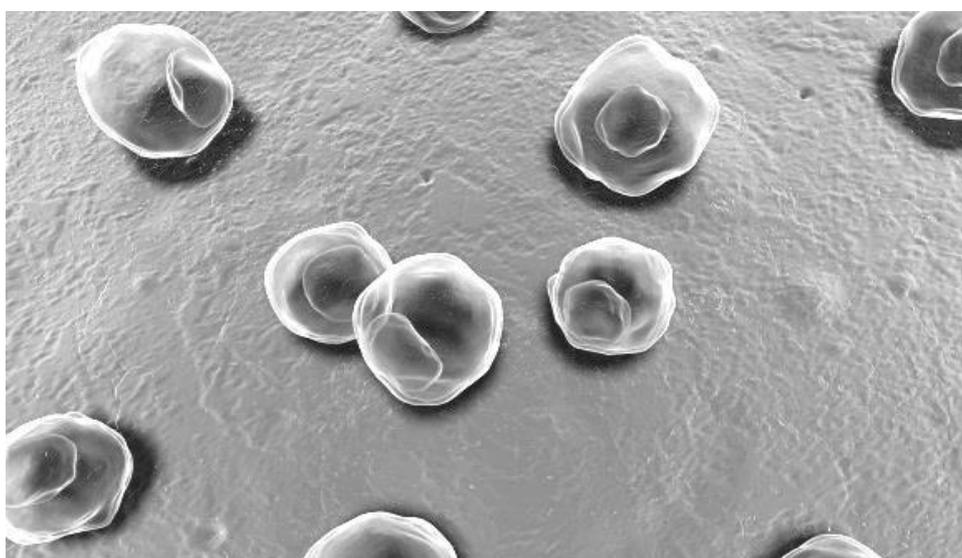


Рисунок 5 - Хламидия трахоматис (3D-моделирование)

Из лабораторных животных к хламидиям чувствительны морские свинки, кролики, белые мыши. Хорошей биологической моделью являются обезьяны. Хламидии сравнительно устойчивы во внешней среде, хорошо сохраняются при низких температурах. В воде не теряют жизнеспособности до 17 дней, в лиофилизированном состоянии – до 3 лет, в непастеризованном молоке – 23 дня. Возбудитель инактивируется дезсредствами в обычных концентрациях (2-3% раствор натрия гидроокиси, 3% раствор фенола, 2-3% раствор формальдегида и др.). Чувствителен к антибиотикам тетрациклинового ряда (геомицинретард, тетрацилин, хлортетрацилин, окситетрацилин и другие). Трудности лечения больных связаны с тем, что возбудитель является внутриклеточным облигатным паразитом и на определенных этапах инфекционного процесса становится недоступным для антибиотиков и других применяемых средств, поэтому курс лечения длительный и зачастую оказывается малоэффективным. Встречаются лекарственно-устойчивые L-формы возбудителя.

Эпизоотологические данные. К хламидиозу восприимчивы животные всех возрастов независимо от породы и пола, а также человек. Заражение

человека происходит при родовспоможении, контактах с инфицированным материалом (абортированные плоды, плацента и т.д.) или от небрежного обращения с лабораторными культурами хламидий. Признаки болезни у человека варьируются от неспецифического до тяжелого системного заболевания с интерстициальной пневмонией и энцефалитом. У больных обычно развивается головная боль, озноб, недомогание и миалгии, с признаками или без признаков поражения органов дыхания. У женщин болезнь протекает тяжелее, существует угроза, прерывание беременности или гибели плода. Поэтому беременные женщины являются группой риска и не должны допускаться к работе с потенциально опасным материалом (глава 1.1.4 Биобезопасность и биобезопасность: стандарт для управление биологическим риском в ветеринарной лаборатории и животноводстве).

Источником возбудителя инфекции являются больные и переболевшие животные. Последние являются хламидионосителями длительное время (до 12 месяцев) и постоянно выделяют возбудителя с истечениями из глаз, носовой полости, с фекалиями, со спермой (производители), мочой, молоком, околоплодными водами и плодными оболочками, обсеменяя при этом окружающую среду. Заражение животных происходит алиментарным, аэрогенным, при случайке или искусственном осеменении. В большинстве случаев заражение приводит к иннаппарантной, хронической инфекции и/или к длительному хламидионосительству.

Хламидии легко преодолевают плацентарный барьер у беременных животных и инфицируют плоды (до 30%), в таком случае рождаются больные животные (чаще с поражением желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы и суставов). Для хламидиоза характерна стационарность, которая объясняется длительным хламидионосительством, наличием резервуара возбудителя (мышевидные грызуны и многие дикие животные). Природная очаговость обусловлена тем, что хламидии циркулируют у рыб, растений, моллюсков, вызывая различные патологические состояния.

Наибольшее количество абортот приходится на зимне-весенний период. С наступлением холодов, особенно на фоне нарушений условий содержания и кормления животных, увеличивается процент заболеваемости, болезнь проявляется клиническими признаками у различных возрастных групп животных, увеличивается количество абортот и мертворождений. В летнее время количество больных животных резко снижается, и болезнь переходит в латентную форму. Заболеваемость и летальность среди поголовья животных зависит от формы проявления болезни. При респираторной форме болезни заболеваемость - до 60%, летальность - до 30%, при кишечной, соответственно, 25-50% и 20-30%. При энцефалитной форме летальность составляет 100%. Заболеваемость и летальность может увеличиваться, если хламидиоз осложняется бактериальными и вирусными инфекциями.

Патогенез начинается около 90 дня гестации, совпадающей с фазой быстрого роста плода, когда хламидийное вторжение в плацентоты вызывает прогрессивно диффузный воспалительный ответ, тромботический васкулит и

некроз тканей. Более мягкие изменения происходят в фетальной печени и легких, а в случаях с серьезным повреждением плаценты могут быть доказательства гипоксического мозга (Vuxton et al., 2002; Longbottom et al., 2013). Аборт, вероятно, является результатом сочетания ухудшения материнско-эмбрионального питательного и газообразного обмена, нарушения гормональной регуляции беременности и индуцированной цитокиновой агрессии (Entrican, 2002).

Клинические признаки. Инкубационный период - от нескольких часов до 3-4 месяцев.

Различают: респираторную, артритную, кишечную, генитальную, энцефаломиелитную и кератоконъюнктивальную формы хламидиоза. Хламидиоз может протекать остро, подостро и хронически.

У производителей хламидиоз протекает хронически. При этом наблюдают полиартриты, хромоту, чаще на одну из тазовых конечностей, увеличение семенников (орхит), надсеменных лимфоузлов, уретриты, искривление шеи за счет пареза отдельных групп мышц, поражение желудочно-кишечного и респираторного трактов. Основным клиническим признаком у маток являются аборт и мертворождения. Обычно аборт регистрируется у 30-50% первотелок и разовых свинок. Введение в хозяйство здоровых ранее не болевших животных и покрытие их производителями-хламидионосителями заканчивается абортами у большинства или у всех животных. У маток наблюдается мертворождение, а у других животных рождается нежизнеспособный молодняк. Они погибают в течение 1-2 недель.

Животные, выжившие до месяца, растут и развиваются нормально. Однако после отъема, как правило, наблюдаются рецидивы болезни. У них развивается бронхопневмония, поражается желудочно-кишечный тракт. Плохой аппетит, депрессия, сонливость, повышение температуры тела до 41–41,5°С, поносы, сухой кашель, отставание в росте – таковы основные клинические признаки болезни. У некоторых животных развиваются артриты, суставы увеличены, болезненны. Многие животные страдают конъюнктивитом, нередко у них наблюдают поражение нижней части ушной раковины, развитие очаговых дерматитов, кольцевую гангрену хвоста и его отторжение. Зачастую на первое место выступают признаки поражения центральной нервной системы: дрожание кожи, волнообразное сокращение поверхностных мышц, парезы тазовых, реже - грудных конечностей. Животные могут внезапно падать, визжать, совершать плавательные движения, но так же неожиданно поднимаются и кажутся здоровыми.

При *респираторной* форме наблюдается подъем температуры тела до 40–40,5°С, серозное или серозно-слизистое истечение из носовой полости, слезотечение, кашель, учащение дыхания. На 3-5-й день болезни появляется редкий сухой кашель и в легких прослушиваются хрипы, в дальнейшем отмечается бронхопневмония. В крови - лейкопения с нейтропенией. Как осложнение может быть выражен гепатит, нефрит, миокардит. Наряду с поражением органов дыхания у некоторых животных может развиваться *артритная* форма. При этом

преимущественно поражаются скакательные суставы, реже воспалительный процесс распространяется на карпальные и пальцевые. Суставы увеличены, болезненны. При затянувшемся хроническом процессе возможно образование свищей из суставной капсулы.

Кишечная форма заболевания характеризуется повышением температуры тела до 41°C, отсутствием аппетита, угнетением, учащением пульса и дыхания. Затяжные поносы сопровождаются тенезмами, в жидких каловых массах много слизи с примесью крови. Больные животные заметно худеют, у них западают глаза, а у некоторых отмечаются серозно-слизистые истечения из носа и кашель.

Генитальная форма характеризуется абортами, преждевременными родами, рождением мертвых и больных животных. Аборты могут происходить на втором месяце беременности. Такие случаи проходят незамеченными, и животные остаются яловыми. Аборты чаще наблюдают в последние недели беременности. Несмотря на своевременные роды, многие животные рождаются мертвыми. Потери молодняка могут достигать 70% от числа родившихся. У абортировавших животных наблюдаются маститы, эндометриты, задержание последа.

Кератоконъюнктивальная форма характеризуется односторонним конъюнктивитом и кератитом. При этом из пораженного глаза появляются истечения, веки опухают, возникает сильная светобоязнь. На поверхности отечной слизистой оболочки видна мелкая зернистость. Воспалительный процесс может распространяться и на роговицу, вызывая кератит, а иногда и изъязвления ее. Через 8-10 дней животные выздоравливают (рисунок 6).



Рисунок 6 - Поражение конъюнктивы (покраснение и отечность) Dr. JAW (Koos) Coetzer, U of Pretoria, South Africa© Cornell Veterinary Medicine

При *энцефаломиелитной* форме первый признак болезни – внезапное повышение температуры тела до 40,5-42°C, постепенно исчезает аппетит, наступает истощение и физическая слабость, наблюдается слезотечение и кашель, затем может наступить выздоровление животных. Но в большинстве случаев развиваются симптомы поражения центральной нервной системы. Движения животных становятся некоординированными. Конечности в путовых суставах произвольно сгибаются, суставы иногда бывают отечны, мягки и болезненны. Больные животные обладают повышенной чувствительностью и иногда упираются головой в твердые предметы. Физическая слабость сопровождается протрацией и глубоким угнетением. В некоторых случаях незадолго до смерти отмечаются судорожные сокращения шейных и затылочных мышц. Отмечается статическая и динамическая атаксия, дрожание головы, судороги верхних век, глаз, ушей и губ. Многообразие клинического проявления хламидиоза свидетельствует о том, что возбудитель поражает весь организм. Интенсивность и сочетаемость клинических признаков болезни зависит от возраста животного, иммунобиологического состояния организма, влияния факторов внешней среды.

Патологоанатомические изменения. Макро- и микроскопические изменения в органах и тканях при хламидиозе у различных возрастных групп имеют свои особенности.

В грудной и брюшной полостях, перикардиальной сумке в большинстве случаев отмечается скопление транссудата соломенно-желтого цвета, иногда с красноватым оттенком, в легких, как у абортированных плодов, так и у павшего молодняка – венозное полнокровие, часто сочетающееся с отеком. Могут наблюдаться признаки интерстициальной (катаральной или катарально-гнойной бронхопневмонии) пневмонии (рисунок 7).



Рисунок 7 – Поражения легких при хламидиозе (Dr. JAW (Koos) Coetzer, U of Pretoria, South Africa © Cornell Veterinary Medicine)

Хламидии, проявляя тропизм к репродуктивной системе, у беременных преодолевают плацентарный барьер, вызывают поражение плодов, вследствие часть их погибает в утробе матери или же рождаются живыми, но хламидионосителями. У абортированных плодов и молодняка, погибшего в первые дни жизни, наблюдается цианоз кожи в области носа, подгрудка, лобных костей, копытец и слизистой оболочки преддверия ротовой полости и конъюнктивы. При вскрытии у них обнаруживается серозный отек кожи и подкожной клетчатки в области затылка, подчелюстного пространства, промежности, грудных и тазовых конечностей. В подкожной клетчатке в области лобной и затылочной костей, кроме отека, обнаруживают кровоизлияния.

У абортированных плодов легкие находятся в состоянии фетально-тотального ателектаза.

В желудке и тонком отделе кишечника обнаруживается серозно-слизистый катар. Слизистая толстого отдела кишечника, в особенности ободочной кишки, чаще у плодов, в состоянии водянисто-студневидного отека. У отдельных плодов просвет толстых кишок заполнен красно-бурой массой студневидной консистенции. Печень в состоянии венозной гиперемии, под капсулой обнаруживаются белесовато-сероватые участки размером 1×1,5 см, не имеющие четко выраженных границ. В почках под капсулой видны точечные кровоизлияния, в мозговом слое на разрезе выражен венозный застой, на поверхности заметны очаги серо-белого цвета (рисунок 8). Развивается зернистая, жировая дистрофия почек, печени и миокарда.

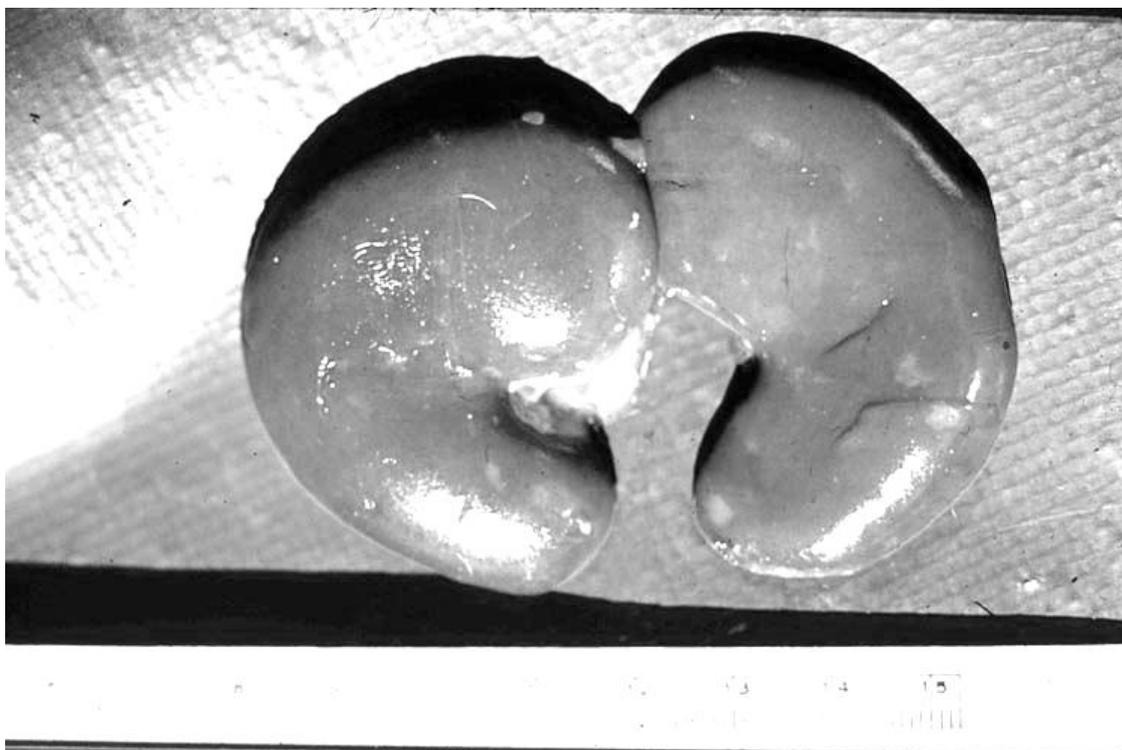


Рисунок 8 – Поражения почек (Dr. JAW (Koos) Coetzer, U of Pretoria, South Africa © Cornell Veterinary Medicine)

У 8–40-дневных животных или убитых в начале заболевания наиболее сильно выраженные изменения обнаруживаются в сердце: на эпикарде, иногда на внутренней поверхности перикарда видны серо-желтые наложения фибрина. Одновременно может развиваться серозно-фибринозный перитонит.

У маток, убитых в первые сутки после родов или аборта, слизистая оболочка рогов матки отечна и гиперемирована, шейка матки и влагалище местами геморрагически инфильтрованы. Наблюдается катарально-гнойный эндометрит, цервицит и вагинит. В регионарных лимфоузлах серозный лимфаденит (рисунок 9). На плаценте возможны кровоизлияния и некрозы.

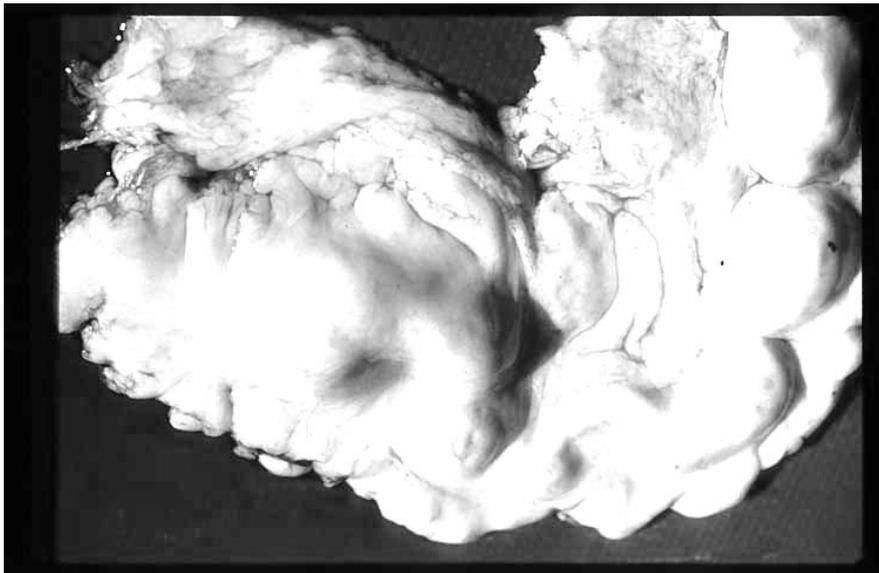


Рисунок 9 - Серозно-геморрагический лимфаденит при хламидиозе (Dr. Coos Coetzer © Cornell Veterinary Medicine)

При гистологическом исследовании материала обнаруживают элементарные тельца и цитоплазматические включения в различных органах и тканях (рисунок 10).

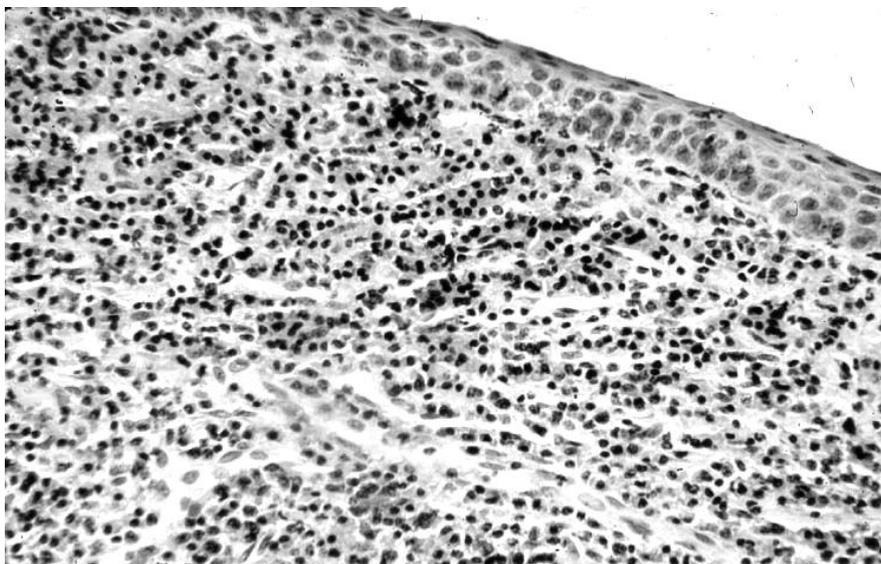


Рисунок 10 - Гисто-кератит при хламидиозе (© Cornell Veterinary Medicine)

У производителей наблюдается увеличение семенников и надсеменниковых лимфоузлов в 1,5-2 раза, семяпроводы геморрагически воспалены. В предстательной железе, слизистой уретры и возле головки полового члена – кровоизлияния.

Диагностика.

Диагностика хламидиоза базируется на проведении комплексных исследований и наблюдений. При постановке диагноза учитывают эпизоотологические данные, клиническую, патологоанатомическую картину, результаты гистологических исследований. Решающее значение в Республике Беларусь имеет лабораторная диагностика болезни, которая включает следующие методы:

- **Микроскопический метод** - обнаружение хламидий в исследуемом материале с помощью световой и люминесцентной микроскопии (флуорохромированием и иммунофлуоресценцией);
- **Метод выделения и культивирования хламидий** на куриных эмбрионах, культуре клеток, в организме восприимчивых животных с последующей идентификацией возбудителя;
- **Серологический метод** - выявление нарастания титра антител в парных пробах сыворотки больных или переболевших животных в: РСК (реакция связывания комплемента), РДСК (реакция длительного связывания комплемента), РНСК (реакция непрямого связывания комплемента), РНГА (реакция непрямой гемагглютинации), ИФА (иммуноферментный анализ);
- **Молекулярно-генетический метод** идентификации хламидий – ПЦР (полимеразная цепная реакция).

При диагностике хламидиоза предусмотрены следующие сроки исследований:

- выявление специфических антител – от 1 до 5 дней;
- световая микроскопия – от 30 минут до 2 часов;
- люминесцентная микроскопия – до 3 часов;
- выделение и идентификация хламидий – от 7 до 40 дней;
- выявление ДНК хламидий - от 4 часов до 2 суток.

Диагностика микроскопическим, серологическим и молекулярно-генетическим методами проводится согласно инструкциям по применению соответствующих диагностикумов и тест-систем.

В соответствии с Руководством по диагностическим испытаниям и вакцинам для наземных животных 2018 (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018, таблица 1) - Международное эпизоотическое бюро, 2018 рекомендуются следующие методы диагностики энзоотического аборта овец.

Таблица 1 – Методы, рекомендуемые для диагностики, и цели исследования

Метод	Цель исследования					
	Отсутствие инфицированности популяции	Отсутствие инфицированности животного перед перемещением	Вклад в мероприятия по оздоровлению	Подтверждение клинических случаев	Распространенность болезни (эпизоотическая ситуация) - наблюдение	Иммунный статус индивидуальных животных или популяции после вакцинации
Идентификация возбудителя						
Мазки-отпечатки	-	-	-	+	-	n/a
Выделение возбудителя			-	++	-	n/a
Иммуногистохимия	-	-	-	++	+	n/a
ПЦР	-	-	-	+++	++	n/a
ПЦР в реальном времени	-		-	+++	++	n/a
Определение иммунного ответа						
Реакция связывания комплемента	+	+	+	+	+	+
ИФА (ELISA)	+++	++	+++	++	+++	+++

Примечания: +++ - рекомендуемый метод;

++ - подходящий метод;

+ - метод может быть использован в некоторых случаях, но стоимость, надежность и другие факторы серьезно ограничивают его применение;

n/a - не используется для этой цели.

В соответствии с Руководством по диагностическим испытаниям и вакцинам для наземных животных 2018 (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018, таблица 2) - Международное эпизоотическое бюро, 2018 рекомендуются следующие методы диагностики птичьего хламидиоза.

Таблица 2 – Методы, рекомендуемые для диагностики птичьего хламидиоза

Метод	Цель исследования					
	Отсутствие инфицированности популяции	Отсутствие инфицированности животного перед перемещением	Вклад в мероприятия по оздоровлению	Подтверждение клинических случаев	Распространенность болезни (эпизоотическая ситуация) - наблюдение	Иммунный статус индивидуальных животных или популяции после вакцинации
Идентификация возбудителя						
Общепринятый	-	-	n/a	++	+	n/a
ПЦР в реальном времени			n/a	+++	++	n/a
Выделение ДНК на биочипах	-	-	n/a	++	+	n/a
Цитологическое окрашивание	-	-	n/a	+	-	n/a
Изоляция на культуре клеток или РКЭ	-	-	n/a	++	+	n/a
Иммуногистохимия	-	-	n/a	++	-	n/a
Определение иммунного ответа						
Реакция связывания комплемента	+	+	n/a	+	+	n/a
Реакция иммунофлуоресценции ELISA	++	+	n/a	+	++	n/a

Примечания : +++ - рекомендуемый метод;

++ - подходящий метод;

+ - метод может быть использован в некоторых случаях, но стоимость, надежность и другие факторы серьезно ограничивают его применение;

n/a - не используется для этой цели.

Сбор и подготовка образцов

Материал для исследования.

От больных и подозрительных по заболеванию животных берут фекалии, соскобы с конъюнктивы, гениталий, используя при этом стерильные инструменты, посуду или упаковочную тару. Исследуемый материал вносят в стерильные пробирки с физиологическим раствором в количестве 1 мл. Пробирки помещают в сосуд со льдом и направляют нарочным в лабораторию. Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 24 часов. От подозрительных по заболеванию и абортировавших животных берут кровь дважды: первый раз - в период клинического проявления болезни, второй – спустя 14-21 день после первого взятия с целью получения сыворотки. Сыворотку крови получают по общепринятой методике и в количестве 1-2 мл направляют в лабораторию, где ее хранят при - 20°C. Сыворотку, полученную от первого и второго взятия крови, исследуют одновременно. Гемолизированная, проросшая сыворотка исследованию не подлежит. От абортировавших маток направляют в лабораторию кусочки плаценты, влагалищную слизь. Абортированные плоды можно отсылать целиком или же их паренхиматозные органы и желудок. От павших или вынужденно убитых животных посылают кусочки паренхиматозных органов, семенников, головной мозг, пораженные суставы. Материал для исследования отбирают не позднее 2 часов после гибели, аборта или вынужденного убоя животных. Пробы эякулята или сперму в количестве 1 мл доставляют в лабораторию в пробирках с сухим льдом или в контейнере с жидким азотом. Доставку исследуемого материала в лабораторию осуществляют с соблюдением правил, исключающих распространение возбудителя болезни.

1.1. Микроскопический метод.

Световая микроскопия.

Из исследуемого материала (легкие, печень, селезенка, почка, экссудат из конъюнктивы и т.д.) готовят препараты-отпечатки или препараты-мазки. Препараты окрашивают по Стемпу, Маккиавелло (Macchiavello), Романовскому-Гимзе (Giemsa), Циль-Нильсену (Ziehl-Neelsen), по Маккиавелло в модификации Здродовского. Наиболее часто используется Модифицированная техника Гименеса (Giménez). В препаратах хламидии располагаются отдельно или скоплениями внутри и вне клеток. При окраске по Стемпу элементарные тела хламидий ярко-красные, цитоплазма клеток бледно-зеленая, ядра клеток окрашены в бледно-зеленый цвет несколько интенсивнее, чем цитоплазма. При окраске по Маккиавелло хламидии приобретают рубиново-красный цвет, цитоплазма клеток – светло-синяя, ядра – темно-синие, а по Романовскому-Гимзе – возбудитель хламидиоза окрашивается в темно-фиолетовый цвет, цитоплазма клеток фиолетово-голубая, ядра сине-фиолетовые (Andersen&Vanrompay, 2008; Campbell et al., 2015). Успех микроскопического исследования во многом зависит от качества приготовленных препаратов, возможностей и технического состояния светового микроскопа и опыта бактериолога. Для работы необходимо

использовать микроскопы с высоким разрешением (0,14 – 0,2 мкм) и общим увеличением в 1350–2000 раз.

Люминесцентная микроскопия.

Для индикации хламидий в качестве первоначального скринингового теста в исследуемом материале часто используют метод флуорохромирования (рисунки 11, 12, 13, 15).



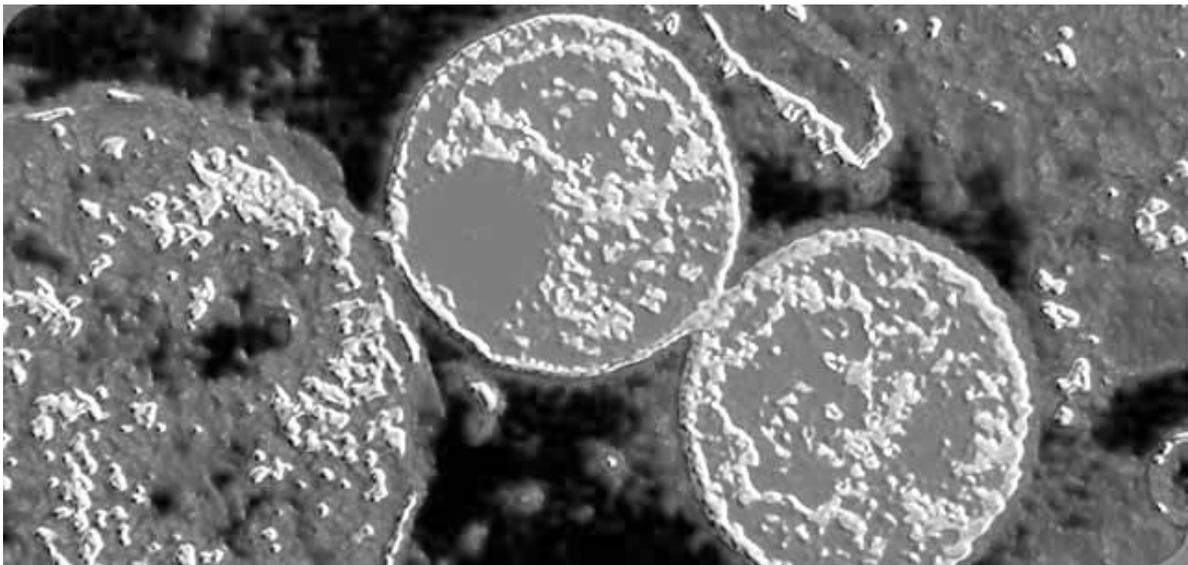
Рисунок 11 – Люминесцентный микроскоп

Техника окраски: препараты (мазки) фиксируют жидкостью Корнуа в течение 5 мин., двукратно отмывают фосфатно-цитратным буфером по 2-4 мин., наносят рабочий раствор акридинового оранжевого на 10-20 мин.; трижды отмывают фосфатно-цитратным буфером по 2 мин. и больше; заключают в этот буфер, прикрепляя покровное стекло парафином.

Исследуют в люминесцентном микроскопе (лучше в падающем свете) с комбинацией фильтров СЗС, БС, ФС.

Элементарные тельца хламидий флуоресцируют ярко-зеленым светом, их промежуточные формы - от соломенно-темного до оранжевого свечения. Подобные структуры обнаруживают как внутри, так и вне клеток.

Недостатком является низкая чувствительность окрашивания и отсутствие возможности определить видовую специфичность.



Рисунки 12, 13 – Элементарные и ретикулярные тельца хламидий при люминесцентной микроскопии (Andersen&Vanrompay, 2008)

Метод дает хорошие результаты при исследовании мазков из патологического материала, особенно плодных оболочек от абортировавших животных.

Для идентификации хламидий используют прямой и непрямой варианты (рисунок 14) реакции иммунофлуоресценции (РИФ). Для приготовления препаратов используют стекла с матовой площадкой у края и надписи ведут простым карандашом.

Схема Реакции иммунофлуоресценции (РИФ) (Кунса)



Рисунок 14 – Схема постановки реакции иммунофлуоресценции (РИФ)



Рисунок 15 – Элементарные тельца хламидий при люминесцентной микроскопии

Прямой метод иммунофлуоресценции.

Фиксированные холодным ацетоном препараты после промывания ФСБР обрабатывают синькой Эванса 30-40 с., промывают водопроводной водой. При отсутствии синьки Эванса препараты обрабатывают смесью в равных объемах, состоящей из флуоресцирующей хламидийной сыворотки (содержит антитела против хламидий, меченые ФИТЦ) и бычьего альбумина, меченного родамином, взятого в удвоенном титре.

В случае применения синьки Эванса препараты обрабатывают только меченой флуоресцирующей хламидийной сывороткой (в термостате при +37°C в течение 30-40 мин., во влажной камере). Тщательно промывают ФСБР, наносят

каплю забуференного глицерина, накрывают покровным стеклом, исследуют под люминесцентным микроскопом.

Непрямой вариант реакции иммунофлуоресценции (РИФ).

Готовят следующие растворы: фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ) - 6,8 г NaCl, 0,63 г KH_2PO_4 и 1,48 г Na_2HPO_4 последовательно растворяют в 1 л дистиллированной воды pH 7,2; забуференный глицерин - смешивают одну часть ФСБР с девятью частями глицерина; раствор синьки Эванса: 1 г синьки растворяют в 100 мл дистиллированной воды во флаконе из темного стекла. Для приготовления рабочего раствора красителя (1: 10000) берут 0,1 мл раствора 1: 100 и объем доводят дистиллированной водой до 10 мл.

Техника окраски: мазки из патологического материала, инфицированных клеточных культур и т. п. фиксируют ацетоном на холоде в течение 5-10 мин., промывают ФСБР и подсушивают на воздухе. Для устранения неспецифической люминесценции фона на мазки на 30-40 с. наносят рабочий раствор синьки Эванса (1:10000), которую смывают слабой струей водопроводной воды. Наносят на каждый препарат 1-2 капли кроличьей (или другого вида животного) иммунной антихламидийной сыворотки, содержащей обычные немеченные антитела против хламидий в титре не ниже 1:32-1:64. Препарат помещают во влажную камеру и помещают в термостат при температуре - 37°C на 30-40 мин.

Затем тщательно промывают ФСБР три раза по 5—10 мин.; на препараты наносят антивидовую (содержащую меченые ФИТЦ антитела против глобулинов того вида животного, с использованием которого получена первая иммунная сыворотка) сыворотку, выдерживают в термостате при температуре +37°C во влажной камере 30-40 минут. Тщательно промывают ФСБР. На каждый препарат наносят по капле забуференного глицерина, накрывают покровным стеклом, которое прикрепляют расплавленным парафином. Препараты исследуют под люминесцентным микроскопом в падающем свете при комбинации светофильтров ФС 1-2, БС-8-2, СЗС 7-2 и запирающем ЖС18, объективиммерсионный.

Препараты, обработанные синькой Эванса, в ультрафиолетовых или синефиолетовых лучах, имеют **красный фон** разных оттенков, тогда как элементарные тельца хламидий, их колонии (включения) флуоресцируют **зеленым изумрудным светом**.

При отсутствии синьки Эванса можно использовать для контрастирования фона бычий альбумин, меченный родамином, который в удвоенном титре смешивают с первой сывороткой 1:1. Бычий альбумин уступает синьке Эванса в том смысле, что каждый раз дополнительно необходимо определять его рабочую дозу методом титрации. Фон препаратов, обработанных меченым бычьим альбумином, **оранжевый**, хламидийные структуры — **изумрудно-зеленые**.

2. Метод выделения и культивирования хламидий

Выделение хламидий из исследуемого материала проводят на куриных эмбрионах, культуре клеток. Чаще всего для выделения хламидий используют

заражение куриных эмбрионов суспензией исследуемого материала. Исследуемый материал (пробы паренхиматозных органов, лимфоузлов и других тканевых материалов) нарезают мелкими кусочками в стерильную фарфоровую ступку, используя стерильные инструменты. В ступку добавляют стерильный песок и растирают пестиком до получения однородной кашицы. Затем, путем добавления физиологического раствора получают 10-20%-ную суспензию. Для удаления грубых частиц суспензию фильтруют, фильтрат центрифугируют при 2 - 3 тыс. об/мин. в течение 25 - 30 минут. Надосадочную жидкость обрабатывают пенициллином из расчета 100 ЕД/мл, стрептомицином 500 ЕД/мл и гентамицином 150 мкг/мл.

Пробы спермы, эякулята, влагалищной слизи используют в неразведенном виде или разводят 1:2 физраствором и обрабатывают антибиотиками. Надосадочную жидкость, пробы спермы, эякулята, влагалищной слизи высевают на МПБ, МПА, среду Китта-Тароцци и выдерживают посевы в термостате 48-72 часа для исключения бактериального загрязнения. При отсутствии роста микрофлоры на питательных средах материал используют для заражения куриных эмбрионов.

2.1. Заражение куриных эмбрионов

Куриные эмбрионы заражают в желточный мешок или хорион-аллантаоисную оболочку. Яйца должны быть получены от кур, в рацион которых не добавляли антибиотики. Стандартная процедура инокуляции заключается в том, чтобы вводить до 0,5 мл инокулята в желточный мешок определенного не содержащего патогенов 6-7-дневного эмбриона (Andersen & Vanrompaey, 2008). Затем яйца инкубируют во влажной атмосфере при 39 °С, а не при 37 °С, так как размножение хламидий значительно увеличивается при более высокой температуре

Эмбрионы инкубируют в термостате при 37°С и овоскопируют ежедневно. Гибель эмбрионов в 1-е двое суток считают неспецифической. Специфическая гибель их начинается на 3-4-е сутки и может регистрироваться до 10-12 дня.

При отсутствии специфической гибели эмбрионы на 12-й день вскрывают и проводят пассаж по описанной выше методике. Рекомендуется проводить не менее трех последовательных пассажей, используя при этом центрифугат 10-15% суспензии желточных мешков.

Погибшие эмбрионы вскрывают, желточные мешки отбирают и готовят из них препараты-отпечатки. Аллантаоисную жидкость проверяют на стерильность путем высева на обычные питательные среды. Препараты окрашивают и микроскопируют. Результат считают положительным в случае обнаружения хламидий в препаратах, приготовленных из желточных мешков куриных эмбрионов любого из 3-х пассажей.

2.2. Выделение хламидий на культуре клеток

Простейшие методы начинаются с роста хламидий в клеточной культуре. Эти два метода, описанные ниже, позволяют продуцировать антигены, которые можно использовать в микро-ЦФТ. Обе процедуры довольно сходные: оба

включают рост хламидий в клеточной культуре, инактивацию хламидий, частичную очистку антигена, механическое разрушение и разбавление в соответствующий буфер. Выбор методики напрямую зависит от имеющегося оборудования.

Первая процедура (Grimes, 1985) начинается с процесса накопления хламидий в культуре клеток, когда уже визуально отмечается цитопатическое действие. Культуру инактивируют добавлением фенола к окончательной концентрации 1,0%, инкубировали в течение 24 часов при 37 °С и концентрировали центрифугированием при 10000 об/мин. в течение 1 часа. Осадок восстанавливают до 10% от исходного объема, используя VBS, pH 7.2, содержащего 1,0% фенола и 1,0% глицерина. Затем осадок гомогенизируют в омимиксере с максимальной скоростью в течение трех 1-минутных периодов и охлаждают в ледяной воде. Гомогенат центрифугируют в течение 15 минут при 100 г для удаления осадка. Некоторые процедуры предполагают нагревание антигена в течение 30 минут на кипящей водяной бане. Супернатант сохраняют и разбавляют до необходимой концентрации.

Во второй процедуре получения антигена для ЦФТ (Bracewell&Bevan, 1986), его получают из L-клеток, инфицированных штаммом пситтацина. Клеточную культуральную среду сливают и клеточный монослой нагревают в течение 40 минут при 56 °С. После этого клетки лизируют в дистиллированной воде, хламидии разрушаются ультразвуком, а затем добавляют изотонический раствор.

Правильное обращение с клиническими образцами также необходимо для предотвращения потери инфекционности хламидий во время транспортировки и хранения. *Самой удовлетворительной средой является сахароза / фосфат / глутамат или SPG-среда.* Она содержит сахарозу (74,6 г / л); KH_2PO_4 (0,52 г / л); K_2HPO_4 (1,25 г / л); L-глутаминовую кислоту (0,92 г / л) и бычий сывороточный альбумин - фракция V (1 г / л), которую можно стерилизовать фильтрованием с добавлением антибиотиков (стрептомицин, ванкомицин (25-100 мкг / мл), амфотерицин В и гентамицин (50 мкг/мл каждый). Добавление антибиотиков снижает эффект загрязнения, даже если образцы отгружаются при температуре окружающей среды. Организм остается жизнеспособным в течение нескольких дней даже в отсутствие холодильного хранения. Эта среда также может использоваться в качестве лабораторного разбавителя и для замораживания хламидий.

Контаминированные образцы должны быть предварительно обработаны перед использованием для инокуляции клеточных культур. Для этого используют три основных метода: добавление антибиотиками, добавление антибиотиками вместе с липопротеином и центрифугирование (Andersen&Vanrompay, 2008) и добавление антибиотиками с фильтрацией (Andersen&Vanrompay, 2008). Образцы гомогенизируют в забуференном фосфатом физиологическом растворе (PBS), pH 7,2, содержащем максимум из следующего: стрептомицин, ванкомицин (по 100 мкг / мл каждый) и гентамицин (50-200 мкг / мл). Амфотерицин В или нистатин (50 мкг/мл

каждый) можно добавлять для контроля дрожжей и грибкового роста. Следует избегать пенициллина, тетрациклина и хлорамфеникола, поскольку они ингибируют рост хламидий. В некоторых случаях, например, образцы фекалий свиней, лечение пенициллином G (500 IE /мл) может быть полезным. Когда степень загрязнения небольшая, образцы должны быть гомогенизированы в растворе антибиотика до инокуляции в тканевые культуры. Образцы часто оставляют стоять в антибиотическом растворе 24 часа при 5 °С перед инокуляцией. Сильно загрязненные образцы, такие как образцы фекалий, следует гомогенизировать в антибиотиках и затем центрифугировать при 500 г в течение 20 минут. Поверхностный слой и нижний слой отбрасываются. Надосадочную жидкость собирают и повторно центрифугируют. Конечную надосадочную жидкость используют для инокуляции. Образцы следует пропускать через фильтр 450-800 мкм среднего размера пор, если загрязнение сохраняется.

Культуры клеток являются наиболее удобным методом выделения *S. psittaci*. Самые распространенные клеточные линии - BGM, McCoy, HeLa, почки африканской зеленой обезьяны (Vero), и L-клетки (Vanrompayetal., 1992). Клетки выращивают в виде монослоев с использованием стандартной ткани – культуральной среды, содержащей 5-10% фетальной телячьей сыворотки и антибиотики, которые не ингибируют хламидии (как описано ранее).

Для подтверждения диагноза культивируемые клеточные монослои суспендируют в среде роста в концентрации 2×10^5 клеток / мл. Аликвоты 2 мл суспензии распределяют в плоскодонные флаконы, каждый из которых содержит одно покровное стекло 12 мм. Конфлюэнтные монослои с покровным стеклом достигаются после инкубации при 37 °С в течение 24 часов. Среду для выращивания удаляют и заменяют на 2 мл тестового инокулята, который затем центрифугируют при 2500-3500 г в течение 30-60 минут на монослое покровного стекла и инкубируют при 37 °С и 5% CO₂ в течение 2 часов. Инокулят удаляют и заменяют сывороткой или циклогексимидом (0,5 мкг / мл), содержащей среду для культивирования тканей, а затем инкубируют при 37 °С в течение 2-3 дней. Монослои фиксируют в метаноле и окрашивают с использованием процедур Гимзы или Гименеса (Arens&Вайнгартен,1981; Gimenez,1964) или обнаруживаются иммунофлюоресценцией с использованием видов или родов, специфических антител (Sachse et al., 2009). После фиксации метанолом инфицированные культуры содержат базофильные (Giemsa) или эозинофильные (Gimenez) флуоресцентные интрацитоплазматические включения. Аналогичные процедуры используют для культивирования *S. abortus* для получения антигена.

3. Серологический метод

Хламидии имеют групповой термостабильный антиген, который выявляют в серологических реакциях: РСК, РДСК, РНСК, РНГА, ИФА. Наибольшее применение в Республике Беларусь на практике получила РДСК, основанная на выявлении специфических антител в сыворотке крови абортировавших животных (нарастание титра в 2 и более раза).

Абортировавших свиноматок исследуют дважды. Кровь от свиноматок берут в день аборта и спустя 21 день после него. С помощью РСК проводят массовое обследование поголовья, что позволяет выявлять бактерионосителей и оценивать эпизоотическую ситуацию в хозяйстве. Наличие комплементсвязывающих антител к хламидийному антигену в низких титрах – показатель инфицированности животных.

Для постановки РСК Российский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности выпускает «Набор антигенов и сывороток для серологической диагностики хламидиозов сельскохозяйственных животных».

В Республике Беларусь разработаны «Методические указания по постановке реакции непрямого связывания комплемента при серологической диагностике хламидийных инфекций у животных» (Фомченко И.В., Максимович В.В., Тюликов С.И.). В случае нарастания титра антител при исследовании в РНСК парных проб сывороток в два и более раза диагноз считается установленным серологическим методом.

В последнее время широкое распространение получил иммуноферментный анализ, что связано с улучшением финансирования диагностических учреждений и закупкой необходимого дорогостоящего диагностического оборудования и диагностикумов. Кроме этого, при использовании ИФА значительно снижаются затраты времени на проведение исследований и получение результатов анализа.

3.1. Реакция связывания комплемента РСК (CFT - complement fixation test)

РСК (РДСК) или CF- традиционно является наиболее широко используемой серологической реакцией для обнаружения хламидий (рисунок 16). Однако антигенная перекрестная реактивность между *C. abortus* и *C. pecorum*, которая является эндемичной у жвачных животных, а также с некоторыми грамотрицательными бактериями (например, *Acinetobacter*), может приводить к ложноположительным результатам теста CF. Это связано с тем, что хламидийный антиген содержит ЛПС в качестве иммунодоминирующего компонента, который является общим для всех видов *Chlamydiaceae*. Кроме того, было показано, что CF менее чувствительны, чем альтернативные тесты.

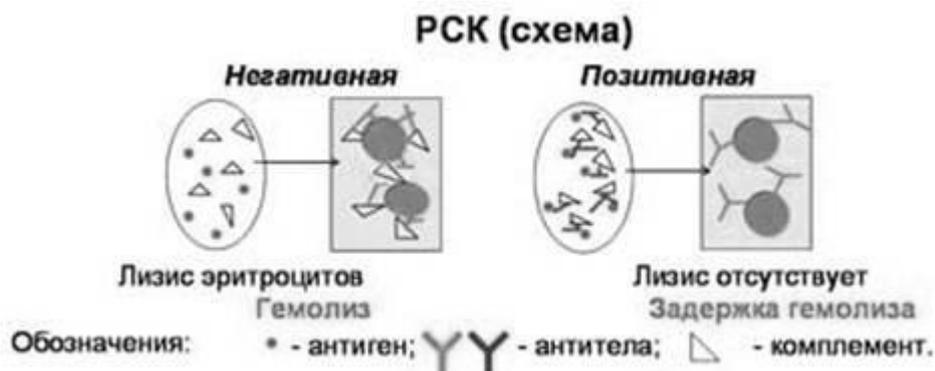


Рисунок 16 – Схема постановки РСК (CFT)

Поэтому, согласно Руководству по диагностическим испытаниям и вакцинам для наземных животных 2018 (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018), CF больше не рекомендуется в качестве метода выбора для серологической диагностики хламидиоза (энзоотического аборта овец-ЕАЕ), но может использоваться для серологической диагностики, если нет других альтернативных методов исследования, с учетом упомянутых выше ограничений (чувствительности и специфичности РСК).

Антиген получают из оболочек желточного мешка, полученных от инфицированных куриных эмбрионов, которые инокулировали таким же образом, как и для выделения хламидий из патологического материала. Подготовку антигена должны проводить в ламинарном шкафу с соответствующей биологической защитой, соблюдая необходимые меры предосторожности для предотвращения инфицирования человека (глава 1.1.4 Руководства по диагностическим испытаниям и вакцинам для наземных животных, 2018). Измельченные и неизмельченные оболочки суспендируют в фосфатном буфере, рН 7,6, со скоростью 2 мл на г мембраны. После удаления осадка надосадочную жидкость центрифугируют при 10000 об/мин. в течение 1 часа при 4 °С, осадок ресуспендируют в небольшом объеме физиологического раствора, чтобы обеспечить высокий выход хламидий. Суспензию выдерживают на кипящей водяной бане в течение 20 минут или подвергают автоклавированию, а азид натрия (0,3%) добавляется в качестве консерванта. Антиген также может быть получен из клеточных культур, инфицированных *S. abortus*.

Инфицированные монослои суспендируют в фосфатном буфере, рН 7,6, и клетки разрушаются гомогенизацией или ультразвуком. Осадок и мусор удаляется, и последующие процедуры аналогичны получению антигена из инфицированных желточных мешков.

Образцы исследуют при двухкратном разведении от 1/32 до 1/512. Титры CF выражаются как самые высокие разведения сыворотки, давая 50% или менее гемолиз: 50% гемолиз оценивается в 2 креста (++) , а 0% гемолизградуированный - 4+. Предполагается, что титр 4+ при разведении 1/32 или выше считается положительным, тогда как титр 2+ при разбавлении 1/32 предполагается двусмысленным (Stamp et al., 1950).

По результатам исследования невозможно дифференцировать антитела, синтезированные после вакцинации от приобретенных в результате естественного инфицирования (тесты DIVA).

3.2. Иммуноферментный анализ (ELISA)

Сущность ИФА заключается в специфическом взаимодействии антител и антигена с последующим присоединением к полученному комплексу антивидового иммуноглобулина, меченого ферментом, способным вызывать разложение субстрата с образованием цветного продукта ферментативной реакции.

Чаще используют твердофазный метод постановки реакции для идентификации антигена и специфических антител. Также необходимо

учитывать особенности выбора соответствующего метода ИФА для каждой диагностической задачи, учитывая различную специфичность и чувствительность коммерческого набора (тест-системы). ИФА (ELISA) на основе антигена LPS или EB (элементарного тела) не могут различать животных, инфицированных *C. pecorum* и *C. abortus*, но при этом чувствительность для первичного скрининга энзоотического аборта по сравнению с РСК гораздо выше. При этом обнаружение антигена *C. abortus* и специфических антител может проводиться с использованием ELISA на основе синтетических пептидов MOMP, рекомбинантного MOMP (Salti-Montesanto et al., 1997) или POMP90 (полиморфный белок наружной мембраны) (Longbottom et al., 2002; Wilson et al., 2009). Совсем недавно начали широко использовать непрямой метод ELISA, основанный на POMP90, который оказался высокочувствительным и специфичным для обнаружения *C. abortus*, особенно при дифференциальной диагностике хламидиоза животных, инфицированных *C. pecorum* (Anon, 2015; Essig&Longbottom, 2015).

Для диагностики *Chlamydia psittaci* применяют ИФА с использованием (MOMP) - рекомбинантных белков наружной мембраны (Verminnen et al., 2006).

Интерпретация результатов ИФА.

Основанием для постановки предварительного диагноза на хламидиоз является увеличение титра антител в парных пробах сывороток в 2-4 раза. При этом учитывается эпизоотическая ситуация в хозяйстве, наличие клинических и патологоанатомических признаков болезни. Сыворотки, давшие сомнительную реакцию, подлежат повторному исследованию и при подтверждении первоначального результата считаются положительными. Животных, с сыворотками крови которых получены положительные и сомнительные результаты, исследуют повторно прямыми методами диагностики для постановки окончательного диагноза (обнаружение антигена).

Наличие специфических антител к *C. abortus* регистрируют главным образом, во время активного размножения возбудителя в плаценте, после бактериемии, которая часто сопровождается абортами. Следовательно, обнаружение повышенного титра этих антител в сыворотке крови абортировавших животных является результатом болезни или инфекционного процесса.

4. Молекулярно-генетические методы (НААТ - тесты амплификации нуклеиновой кислоты).

Эти методы включают обычную ПЦР, полимеразную цепную реакцию в реальном времени (Sachse et al., 2009), ompA-секвенирование (Sachse et al., 2008); множественную последовательность множественных локусов (MLST) (Pannekoek et al., 2010); обнаружение ДНК на основе микрочипов (Sachse et al., 2005, 2008).

Суть ПЦР заключается в амплификации, т.е. увеличении числа копий строго определенных фрагментов молекулы ДНК или РНК (праймеров) искомого агента *in vitro* с последующей индикацией амплификона (амплифицируе-

мый участок ДНК) методом электрофореза или другим методом.

ПЦР позволяет идентифицировать возбудитель в количестве 1 клетки в пробе, специфичность 100%.

Аmplификация хламидийной ДНК с помощью ПЦР для выделения хламидий в биологических образцах является основным методом идентификации возбудителя из-за высокой чувствительности и специфичности ПЦР. Обычные протоколы ПЦР для обнаружения ДНК *C. abortus* нацеливают область рНК 16S-23S (Everett&Andersen, 1999) или *omp* гены (Laroucau et al., 2001) и могут быть объединены с полиморфизмом длины рестрикционного фрагмента (RFLP) для различения амплифицированных последовательностей ДНК, происходящих от *C. abortus*, *C. psittaci* и *C. pecorum*.

ПЦР в режиме реального времени стала более предпочтительным методом в диагностических лабораториях из-за его высокой специфичности, скорости, высокой пропускной способности и простоты стандартизации (Sachse et al., 2009).

4.1. Полимеразная цепная реакция (обычный метод – качественное определение)

Обычный метод ПЦР с детекцией на геле представляет собой простой, быстрый и чувствительный метод для обнаружения генома в образцах крови, семян или образцах ткани. Совсем недавно были описаны количественные методы ПЦР в реальном времени, которые, как сообщается, имеют более высокую чувствительность.

Методика проведения анализа с использованием метода ПЦР включает три этапа:

1. Выделение ДНК (РНК) из клинического образца (пробоподготовка)
2. Амплификация специфических фрагментов ДНК (ПЦР)
3. Детекция продуктов амплификации

Выделение ДНК (РНК)

На данной стадии проведения анализа клиническая проба подвергается специальной обработке, в результате которой происходит лизис клеточного материала, удаление белковых и полисахаридных фракций и получение раствора ДНК или РНК, свободной от ингибиторов и готовой для дальнейшей амплификации. Выбор методики выделения ДНК (РНК) в основном определяется характером обрабатываемого клинического материала.

Постановка ПЦР

- Приготовление реакционной смеси
- Разнесение ее по пробиркам
- Внесение ДНК исследуемых проб
- Загрузка амплификатора
- Введение программы амплификации

Амплификация (копирование)

- Процесс состоит из 30-40 циклов, каждый цикл включает этапы:
- Денатурация 93-95°C
- Отжиг (присоединение праймеров) 50-65°C

- Достаивание второй цепи ДНК 70-72°C

Детекция продуктов амплификации (Учет результатов):

- Приготовление агарозного геля
- Внесение амплификационной смеси в лунки геля
- Электрофорез
- Просмотр геля в ультрафиолетовых лучах

Результаты электрофореза

4.2. ПЦР в режиме реального времени (качественное и количественное определение антигена).

Иерархический подход рекомендуется, включая специфичную для *Chlamydiaceae* скрининг-ПЦР на основе последовательностей 23SpPHK (Ehrlich et al., 2006) и в положительных случаях с последующим анализом на основе ПЦР на основе *C. abortus* на последовательностях белка наружной мембраны (*ompA*) (Livingstone et al., 2009; Pantchev et al., 2009) или анализа гибридизации ДНК микрочипов (Sachse et al., 2005).

Другие протоколы PCR реального времени на основе *ompA* были разработаны для дифференциации генотипов *C. psittaci* (Geens et al., 2005, Hedema et al., 2015). Последняя ПЦР также подтверждена для использования на образцах человека в случае зоонозной инфекции.

Протоколы PCR в реальном времени доступны для специфического обнаружения *C. avium* (Zocovic et al., 2013) и *C. gallinacea* (Laroucau et al., 2015).

4.3. Обнаружение ДНК на основе микрочипов

Было показано, что технология микрочипов ДНК является новым мощным инструментом в диагностике хламидийной инфекции (Sachse et al., 2005). Анализ для обнаружения и идентификации *Chlamydiaceae spp.* основан на ПЦР-амплификации гена 23S рPHK и последующей идентификации *C. psittaci* и другими птичьими агентами *C. avium* и *C. gallinacea* путем гибридизации с видоспецифических зондов. Метод был многократно апробирован и оказался подходящим для рутинной диагностики (Borel et al., 2008). Такой методологический подход позволяет выявлять смешанные хламидийные инфекции и выявлять любых хламидий непосредственно из патологического материала. Расширенная версия микрочипа ДНК допускает генотипирование на основе *ompA* штаммов *C. psittaci* и исследование клинических образцов (Sachse et al., 2008).

ПЦР в реальном времени и микрочип ДНК являются высокоспецифическими методами для прямого обнаружения и идентификации хламидий из патологического материала (Борель, 2008; Панчев и др. 2010).

Анализ ПЦР в сочетании с анализом RFLP или HRM (анализ с высоким разрешением) был разработан с целью дифференциации естественного заражения от вакцинированных животных (DIVA).

5. Дополнительные тесты для лабораторного исследования

5.1. Иммуногистохимический метод

Иммуногистохимическое окрашивание может быть использовано для

выявления хламидий в цитологических и гистологических препаратах и является незаменимым инструментом для выявления наличия хламидий и патологических изменений в тканях. Этот метод более чувствителен и специфичен, чем гистохимическое окрашивание. Обнаружение антигена может быть проведено с использованием коммерчески доступных анти-хламидийных антител, против LPS или МOMP (основной белок наружной мембраны) (Borel et al., 2006). Выбор первичного антитела очень важен, можно использовать как поликлональные, так и моноклональные антитела. Иммуногистохимический метод наиболее оптимален для обнаружения хламидийного антигена при поражениях плаценты или внутренних органов (в основном легких и печени, абортированных плодов (Sachse et al., 2009).

5.2. Другие тесты

Также в лабораторной практике используют реакцию иммунодиффузии в агаровом геле (РИД), реакцию латексагглютинации (тест LA), тест ЕВА (Grimes&Arizmendi, 1996) и реакцию микроиммунофлуоресценции (MIFT). Реакция иммунодиффузии менее чувствительна, чем реакция иммунофлуоресценции.

Тест LA (реакция латексагглютинации) позволяет обнаруживать антитела к *S. psittaci* и является легковыполнимым в лабораторных условиях (Grimes et al., 1993). Латексные шарики покрывают очищенным хламидийным антигеном, тщательно перемешивают с исследуемой сывороткой на стеклянной пластине и легко покачивают в течение 2 минут для усиления агглютинации, учет проводится на темном фоне.

Тест LA и прямые РИФ (методы иммунофлуоресценции) коррелируют в 72,5% исследований с парными пробами сыворотки. Тест LA имеет чувствительность 39,1% и специфичность 98,8% относительно прямого РИФ (Grimes et al., 1993). В реакциях латексагглютинации выделяют как IgM, так и IgG, но лучше всего они позволяют обнаруживать IgM.

Это позволяет использовать тест LA для обнаружения острого течения болезни. Тест ЕВА позволяет обнаруживать только IgM, и это указывает на текущую инфекцию. MIFT быстрый и его легко выполнять; однако флуоресцентно-конъюгированные антивидовые сыворотки не всегда доступны.

5.3. Биопроба

Хламидии из исследуемого материала можно выделять путем внутрибрюшинного, интраназального, интрацеребрального, интраторакального заражения морских свинок. Наиболее приемлемым является внутрибрюшинный способ заражения в дозе 0,5 мл 10%-ной суспензией паренхиматозных органов, приготовленной по методике, описанной выше (как для заражения куриных эмбрионов). Лабораторные животные гибнут на 5-10 сутки после заражения. В случае выживания животных их убивают, из паренхиматозных органов делают 10%-ную суспензию, которой заражают новую партию морских свинок. Необходимо провести не менее 3 последовательных пассажей, как и на куриных эмбрионах. Результат исследования считают положительным при обнаружении хламидий в препаратах-отпечатках из органов павших

лабораторных животных в любом из 3 последовательных пассажей с помощью световой и люминесцентной микроскопии.

Диагноз на хламидиоз считают установленным:

- при выделении возбудителя, антигена хламидий или ДНК хламидий из исследуемого материала и его идентификации;
- при получении нарастания титра антител в парных пробах сыворотки крови (через 15–21 день) больных или переболевших животных в РДСК в два и более раза.

Дифференциальный диагноз.

У взрослых животных хламидиоз по клинике сходен с бруцеллезом, кампилобактериозом, ИРТ, трихомонозом и листериозом. Респираторную и кишечную формы хламидиоза у крупного рогатого скота необходимо отличать от парагриппа, вирусной диареи, инфекционного ринотрахеита, рота- и коронавирусной инфекции, микоплазмоза, аденовирусной инфекции, колибактериоза, сальмонеллеза. Хламидиозный энцефалит - от листериоза, болезни Ауески, бешенства и токсикозов.

Лечение.

Для лечения при хламидиозе испытаны различные препараты. Оказалось, что эффективные при болезнях бактериальной природы пенициллин, полимиксин, канамицин, стрептомицин при хламидиозе неэффективны, также как и сульфаниламиды.

Лечебное действие при хламидиозе оказывают препараты тетрациклинового ряда, однако в органах клинически выздоровевших животных возбудитель сохраняется, и могут быть рецидивы. Учитывая это, телят, полученных в неблагополучном стаде, необходимо подвергать профилактической обработке. Для этого из числа переболевших коров подбирают группу доноров-реконвалесцентов (животные, в сыворотке крови которых содержатся антитела в титрах 1:20 и выше). Сыворотку крови получают методом отстаивания.

Полученную сыворотку реконвалесцентов против хламидиоза вводят телятам по 0,7 мл на кг массы животного дважды в 3- и 10-дневном возрасте.

Больным телятам, чтобы усилить терапевтическую эффективность, следует к сыворотке добавлять дибиомицин из расчета 10 тыс. ЕД/кг массы животного.

Если отсутствует возможность изготовления сыворотки реконвалесцентов, для лечения телят применяют окситетрациклин или тетрациклин. Лечение состоит из двукратных инъекций в первые сутки в дозе 5000 ЕД/кг массы животного. После 2-3 дней уменьшаются явления общей интоксикации и снижается температура тела. Однако, учитывая, что воспалительные процессы в легких нормализуются медленно, лечение следует продолжить в течение 8-9 дней.

В неблагополучном стаде коровам и нетелям для профилактики абортов и рождения мертвых телят за 4-6 недель до отела вводят подкожно дибиомицин в виде 10%-ной взвеси на тривитамине из расчета 10 тыс. ЕД/кг мас-

сы животного, повторно инъектируют через 10 дней. В случае отсутствия дибиомицина курс проводят другими антибиотиками тетрациклиновой группы в дозах, рекомендованных методическими указаниями по применению антибиотиков в ветеринарии.

Специфическая профилактика

В настоящее время применяют два типа вакцины (инактивированные и аттенуированные живые вакцины), которые вводят внутримышечно или подкожно, не позднее 4 недель до осеменения.

Важно отметить, что живая вакцина не должна применяться животным, которых лечат антибиотиками, особенно тетрациклинами. Это снижает эффективность вакцинации. Применение инактивированных вакцин безопасно во время беременности, тогда как живые вакцины не могут использоваться у беременных животных, так как возможны осложнения.

Оба типа вакцины играют определенную роль в борьбе с болезнью, но ни одна из них полностью не обеспечивает абсолютную защиту против заражения.

В настоящее время в Государственном реестре ветеринарных препаратов Республики Беларусь зарегистрировано 2 противохламидиозные вакцины: Вакцина против хламидиоза животных «ХламидиоВак», Вакцина инактивированная концентрированная против парвовирусной болезни, лептоспироза, болезни Ауески и хламидиоза свиней (ПЛАХ). Также в странах таможенного союза, а соответственно и на территории нашей страны, используют эмульсин-вакцину против хламидиоза животных культуральную инактивированную ВИЭВ, вакцину против хламидиоза крупного и мелкого рогатого скота культуральную инактивированную (штамм В-75; изготовитель ООО Блиц).

1. Вакцина против хламидиоза животных «ХламидиоВак».

Вакцинации подлежит клинически здоровое поголовье животных от 1 месяца и старше. Вакцину вводят один раз в год однократно подкожно: овцам и козам - в область верхней трети шеи, свиньям - в область за ухом, крупному рогатому скоту - в область подгрудка. Доза на введение для крупного рогатого скота от 1 до 12-мес. возраста - 1,5 см³, старше 12-мес. - 3,0 см³; овцы и козы от 1 до 6-мес. возраста и старше 6-мес. возраста - 0,5 см³ и 1,0 см³ соответственно, свиньи - от 1 до 6-мес. возраста и старше 6-мес. возраста - 0,5 см³ и 2,0 см³ соответственно. Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у крупного рогатого скота, овец, коз, свиней к хламидиозу через 20-25 суток после однократного применения продолжительностью 12 месяцев. Запрещается использовать вакцину совместно с другими живыми иммунобиологическими препаратами, а также в течение 7 дней до и 14 дней после дегельминтизации.

2. Вакцина инактивированная концентрированная против парвовирусной болезни, лептоспироза, болезни Ауески и хламидиоза свиней (ПЛАХ).

Вакцину применяют для профилактической иммунизации ремонтных и основных свиноматок и хряков. Вакцинации подлежат только клинически здо-

ровые животные. Вакцины вводят однократно внутримышечно в область шеи в дозе 2 см³. Перед применением вакцины нагревают на водяной бане до температуры 36-38°C. Ремонтных свиноматок прививают за 3-4 недели до осеменения, повторно их вакцинируют за 5-6 недель до опороса; основных свиноматок – сразу после отъема поросят. Хряков вакцинируют в 1,5-2-месячном возрасте, повторно вакцинируют через 3 месяца. Ревакцинацию животных проводят через каждые 6 месяцев. У вакцинированных животных иммунитет наступает через 25-30 дней после иммунизации и сохраняется в течение 6 месяцев.

3. Эмульсин-вакцина против хламидиоза животных культуральная инактивированная ВИЭВ.

Вакцину вводят: пушным зверям - в область шеи; овцам и козам - в область верхней трети шеи; свиньям - в область шеи за ухом; крупному рогатому скоту - подкожно в область подгрудка, внутрикожно - в область шеи или крупа. Перед введением вакцины подкожно на месте инъекции кожу животного сдвигают в сторону на 2-3 см, чтобы она после введения препарата закрывала канал, через который вводилась вакцина. Для внутрикожного метода введения используют очищенную, концентрированную вакцину, которую вводят при помощи безыгольных инъекторов различных модификаций. Вакцинируют молодняк и взрослое поголовье животных однократно один раз в год. Дозы при подкожном, внутрикожном введении: крупный рогатый скот от 1 до 12 мес. – 1,5 см³, 0,4 см³; старше 12 мес. - 3 см³, 0,4 см³. Овцы и козы от 1 до 6 мес. – 0,5 см³, 0,2 см³; старше 6 мес. - 1 см³, 0,2 см³; свиньи от 1 до 6 мес. – 0,5 см³, 0,2 см³; старше 6 мес. - 2 см³, 0,4 см³.

Инактивированная культуральная вакцина способствует формированию активного иммунитета к хламидиям у животных. Вакцина стимулирует образование и накопление противохламидийных комплементсвязывающих, гемагглютинирующих и нейтрализующих антител в организме животных. Иммунитет у привитых животных развивается через 20-25 суток после вакцинации и сохраняется в течение 12 месяцев.

4. Вакцина против хламидиоза крупного и мелкого рогатого скота культуральная инактивированная (ООО «Блиц» ГНУ СКЗНИВИ РАСХН).

Вакцинации подлежат все поголовье животных, независимо от пола, возраста и физиологического состояния. Вакцину вводят подкожно в область лопатки или бедра. В хозяйствах, угрожаемых по заносу хламидиоза, вакцину вводят однократно с последующей ревакцинацией через 6 месяцев. В неблагополучных по хламидиозу хозяйствах животным во всех случаях вводят вакцину двукратно, с интервалом 6-7 суток. Коровам и нетелям случного возраста вакцину вводят за 25-40 суток до осеменения, ревакцинируют за 25-40 суток до отела. Быков-производителей вакцинируют через каждые 6 месяцев. Телят, полученных от вакцинированных коров, на 3-4 сутки жизни иммунизируют двукратно с тем же интервалом. При появлении в хозяйстве абортов, рождении мертвого или нежизнеспособного приплода (хламидийной этиологии) коров иммунизируют трехкратно с интервалом 3 суток. Эту схему оставляют до оздоровления хозяйства. Для мелкого рогатого скота – в угрожаемых хозяйствах,

маточному поголовью и производителям вакцину вводят за 1,5-2 месяца до осеменения с последующей ревакцинацией через 6 месяцев. В хозяйствах, неблагополучных по хламидиозу, дополнительно вакцинируют маточное поголовье за 25-40 суток до окота, двукратно, с интервалом 6-7 суток. Молодняк вакцинируют на 3-4 сутки жизни, двукратно, с интервалом 6-7 суток. Производителям вакцину вводят двукратно с интервалом 6-7 суток, с последующей ревакцинацией через каждые 6 месяцев двукратно, с интервалом 6-7 суток. При появлении в хозяйстве аборт, рождении мертвого или нежизнеспособного приплода (хламидийной этиологии) овцам (козам) этой отары проводят лечебный курс - вакцину вводят трехкратно с интервалом 3 суток. Эту схему оставляют до оздоровления хозяйства.

Доза вакцины: молодняку до 2 месяцев – 2 мл, до 6 месяцев – 3 мл, старше 6 месяцев – 5 мл. При двукратном введении вакцины при первом применении дозу вакцины при втором введении увеличивают в 2 раза.

Вакцина индуцирует выработку иммунитета против хламидиоза свиней через 14-16 суток, который сохраняется в течение 6 месяцев. Вакцина безвредна, ареактогенна, обладает лечебными свойствами.

Мероприятия по профилактике.

В Республике Беларусь согласно ветеринарно-санитарным правилам юридические и физические лица, в том числе индивидуальные предприниматели, обязаны:

- проводить закупку, ввоз (вывоз) или ввод (вывод) животных, спермы, эмбрионов из благополучных пунктов по хламидиозу;
- проводить в течение 30 дней карантинирование вновь поступивших животных для проведения лабораторных исследований (испытаний);
- проводить перегруппировку животных внутри сельскохозяйственной организации по согласованию со специалистами в области ветеринарии данной сельскохозяйственной организации;
- обеспечивать проведение дезинфекции, дератизации и дезинсекции помещений для животных и прилегающих к ним территорий;
- обеспечивать учет случаев абортов, мертворождения и падежа животных;
- направлять патологический материал, сыворотку крови от абортировавших животных и растелившихся мертвым плодом в ветеринарную лабораторию для проведения лабораторных исследований (испытаний).

Для специфической профилактики хламидиоза в сельскохозяйственных организациях проводят вакцинацию животных вакцинами в соответствии с инструкциями по их применению.

В селекционно-генетических центрах у всех животных-продуцентов спермы два раза в год с интервалом 6 месяцев необходимо исследовать сперму на контаминацию хламидиями и сыворотку крови - на наличие антител, в соответствии с методическими указаниями по диагностике. При обнаружении хламидий в сперме серопозитивных животных изолируют и сдают на убой. Ранее полученную от них сперму уничтожают.

При импорте племенных овец и коз в Республику Беларусь необходимо

выполнять требования Кодекса здоровья наземных животных в последней редакции.

Согласно Статье 14.4.2 (Рекомендации по импорту племенных овец или коз) Ветеринарные органы должны требовать предъявления международного ветеринарного сертификата, подтверждающего, что животные:

- 1) не покидали с рождения или последние два года хозяйств, в которых энзоотический аборт овец не диагностировался в эти два года;
- 2) в день отправки клинических признаков энзоотического аборта овец не показывали;
- 3) подверглись диагностическому исследованию на энзоотический аборт овец в течение 30 дней перед отправкой, давшему отрицательный результат.

Согласно Статье 14.4.4. (Рекомендации по импорту семени овец или коз) Ветеринарный орган импортирующей страны должен требовать предъявления международного ветеринарного сертификата, подтверждающего, что доноры в день отбора семени клинических признаков энзоотического аборта овец не показывали и:

- 1) содержались в хозяйстве или центре искусственного осеменения, благополучном по энзоотическому аборту овец в соответствии со Статьей 14.4.3, в течение двух лет перед отбором, где не имели контактов с животными из хозяйств с более низким ветеринарным статусом; или
- 2) оставались с рождения или в течение двух лет перед отбором в хозяйствах, в которых энзоотический аборт овец не диагностировался, и подверглись диагностическому исследованию на эту болезнь в период от двух до трех недель после отбора семени, давшему отрицательный результат.

Согласно Статье 14.4.5. (Рекомендации по импорту эмбрионов овец или коз) Ветеринарный орган импортирующей страны должен требовать предъявления международного ветеринарного сертификата, подтверждающего, что самки-доноры в день отбора эмбрионов клинических признаков энзоотического аборта овец не показывали и:

- 1) содержались в хозяйствах, благополучных по энзоотическому аборту овец в значении Статьи 14.4.3., в течение двух лет перед отбором, где не имели контактов с животными из хозяйств с более низким ветеринарным статусом; или
- 2) оставались с рождения или в течение двух лет перед отбором в хозяйствах, в которых энзоотический аборт овец не диагностировался, и подверглись диагностическому исследованию на эту болезнь в период от двух до трех недель после отбора, давшему отрицательный результат.

Эмбрионы должны отбираться, подвергаться манипуляциям и храниться в соответствии с требованиями Главы 4.7. Кодекса здоровья наземных животных.

Мероприятия по ликвидации

Мероприятия по ликвидации в Республике Беларусь осуществляются в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами по профилактике,

диагностике и ликвидации хламидиоза животных, утвержденными Постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 09.02.2018 № 13.

При установлении диагноза запрещается:

- вывод или ввод поголовья в неблагополучный пункт по хламидиозу;
- перегруппировка животных без согласования специалиста в области ветеринарии данной организации;
- совместный выпас животных из неблагополучных пунктов по хламидиозу с другими животными;
- использование для поения животных прудов и других естественных водоемов;
- реализация мяса от вынужденно убитых больных хламидиозом животных в сыром виде, за исключением его вывоза для переработки в организации, осуществляющие деятельность по переработке мяса. Шкуры подвергают дезобработке;
- проведение хирургических операций, кроме неотложных.

Специалист в области ветеринарии проводит клиническое обследование поголовья, и по его результатам животных делят на две группы:

- первая – больные животные. К ней относят животных, имеющих клинические признаки болезни или повышенную температуру тела. Этим животных подвергают лечению. Через 14 дней после клинического выздоровления их прививают противохламидиозной вакциной;
- вторая – животные, не указанные в абзаце втором настоящего пункта, животных этой группы вакцинируют противохламидиозной вакциной с последующим (в течение 3 дней) ежедневным клиническим осмотром и термометрией.

Для ухода за больными и подозрительными на хламидиоз животными закрепляют отдельный обслуживающий персонал. Его обеспечивают специализированной одеждой, дезинфицирующими средствами, аптечками первой помощи, средствами личной гигиены.

Спецодежду, щетки, скребницы, ведра и другой мелкий инвентарь обеззараживают путем погружения на 4 часа в 1%-ный активированный раствор хлорамина, 4%-ный раствор формальдегида или кипятят в 2%-ном растворе натрия гидроксида не менее 90 минут или другими, эффективными при хламидиозе, дезинфицирующими средствами, согласно инструкции по их применению.

Молоко от животных первой группы в течение всего периода лечения подлежит кипячению в течение 30 минут и уничтожению.

Племенная работа проводится по принципу «замкнутого цикла», не допуская перевода молодняка и взрослых животных в благополучные пункты по хламидиозу.

Навоз подвергают биотермическому обезвреживанию в течение не менее 12 месяцев.

В летний период животных из неблагополучных пунктов допускается пе-

реводить на лагерное содержание, а в животноводческих помещениях проводить механическую очистку, мойку, дезинфекцию и санитарный ремонт.

Молодняк, полученный от животных из неблагополучных пунктов по хламидиозу, выращивают отдельно, вакцинируют в сроки, предусмотренные инструкцией по применению вакцины против хламидиоза.

В помещениях, где находятся больные животные, необходимо строго соблюдать параметры микроклимата: в зимний период температура должна быть не менее +15 °С, относительная влажность - 75%, скорость движения воздуха – 0,3–0,5 м/с, содержание углекислого газа - 0,2%, аммиака – 0,2 мг/л. В теплый период года скорость движения воздуха должна быть 0,5–0,8 м/с. В помещениях не допускать сквозняков.

Убой больных и подозрительных на хламидиоз животных производится на санитарной бойне или в конце смены, или в санитарный день на общем конвейере.

Согласно требованию Кодекса здоровья наземных животных (Глава 7.6. – Умерщвление животных по санитарным причинам) при разработке концепции плана умерщвления чрезвычайно важно, чтобы избранный метод обладал постоянной надежностью, чтобы животные умерщвлялись быстро и гуманно.

На всех этапах технологического процесса по переработке сырья (загоны, кровесборные желоба и емкости, оборудованные помещения, транспорт) подлежат тщательной очистке и последующей дезинфекции 5%-ным раствором гипохлорита кальция или другими эффективными при хламидиозе дезинфицирующими средствами, согласно инструкции по применению.

Разрабатывается схема ветеринарных мероприятий и согласовывается главным государственным ветеринарным врачом района, города – главным государственным ветеринарным инспектором района, города или его заместителем. Больных животных подвергают лечению антибактериальными, сывороточными и симптоматическими препаратами.

Специалист в области ветеринарии обязан обеспечивать проведение дезинфекции, дератизации и дезинсекции помещений для животных и прилегающих территорий в порядке, определенном Ветеринарно-санитарными правилами проведения ветеринарной дезинфекции, утвержденными постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758 «О дополнительных мерах по ликвидации и недопущению распространения африканской чумы свиней и других опасных болезней животных» (Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь, 10.09.2013, 5/37741).

Трупы животных, абортированные плоды уничтожать в порядке, определенном Ветеринарно-санитарными правилами захоронения и уничтожения трупов животных, продуктов животного происхождения, не соответствующих требованиям ветеринарно-санитарных правил, утвержденными постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758 «О дополнительных мерах по ликвидации и недопущению распространения африканской чумы свиней и других опасных болезней животных» (Национальный правовой

Интернет-портал Республики Беларусь, 10.09.2013, 5/37741).

Профилактическую дезинфекцию, в том числе и в присутствии животных, при хламидиозе проводят 2 раза в год (весной и осенью), текущую – по мере выявления больных животных.

Ограничительные мероприятия с неблагополучного пункта по хламидиозу снимают после проведения комплекса организационно-хозяйственных и ветеринарных мероприятий, лабораторных исследований (испытаний), по результатам которых не будут выявлены специфические антитела в диагностических титрах (1:10 и выше) при исследовании в серологических реакциях в сыворотках крови животных.

После снятия ограничительных мероприятий на хламидиоз животных запрещается их продажа в течение 2 лет.

Литература

1. Болезни крупного рогатого скота и овец / П. А. Красочко [и др.]. – Махачкала, 2007. – 657 с.
2. О дополнительных мерах по ликвидации и недопущению распространения африканской чумы свиней и других опасных заболеваний животных [Электронный ресурс] : постановление Совета Министров Республики Беларусь, 29.08.2013 № 758. – 2014. – Режим доступа: <http://www.dvprn.gov.by/uploads/download/758.htm>. – Дата доступа: 15.09.2014.
3. Ветеринарная энциклопедия : в 2 т. Т. 1. А – К / С. С. Абрамов [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич. – Минск : Беларуская Энцыклапедыя імя Петруся Броўкі, 2013. – 463 с.
4. Ветеринарная энциклопедия : в 2 т. Т. 2. К – Я / С. С. Абрамов [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич. – Минск : Беларуская Энцыклапедыя імя Петруся Броўкі, 2013. – 597 с.
5. Выращивание и болезни телят (кормление, диагностика, лечение и профилактика болезней) / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 367 с.
6. Заразные болезни, общие для животных и человека : справочное пособие / А. И. Ятусевич [и др.] – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 480 с.
7. Инфекционные болезни животных / Б. Ф. Бессарабов [и др.] ; под ред. А. А. Сидорчука. – Москва : Колос, 2007. – 671 с.
8. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.] ; ред. Н. А. Ковалев ; Национальная академия наук Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. – Минск : Беларуская навука, 2016. – 492 с.
9. Ветеринарные и технологические мероприятия при содержании крупного рогатого скота / П. А. Красочко [и др.]. – Смоленск : Универсум, 2016. – 508 с.
10. Новые и возвращающиеся болезни животных : монография / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 400 с.
11. Организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа [Электронный ресурс] : Республиканский регламент / И. В. Брыло [и др.] // Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь. – Минск, 2014. – Режим доступа: https://mshp.gov.by/documents/animal/trebovaniya_moloko.pdf. – Дата доступа: 22.05.2020.
12. Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с желудочно-кишечными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии : рекомендации / Н. В. Сеница [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней животных. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 45 с.
13. Диагностика, лечение, профилактика и меры борьбы с респираторными болезнями молодняка крупного рогатого скота инфекционной этиологии : ре-

комендации / Н. В. Сеница [и др.] ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней животных. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 42 с.

14. Средства специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота и свиней : практическое пособие / П. А. Красочко [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 368 с.
15. Частная эпизоотология : учебное пособие для студентов высших учебных заведений / В. В. Максимович [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2010. – 628 с.
16. Эпизоотология и инфекционные болезни : учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. В. Максимович [и др.] ; под ред. В. В. Максимовича. – 2 изд., перераб. и доп. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 824 с.



Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины является старейшим учебным заведением в Республике Беларусь, ведущим подготовку врачей ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарных врачей, провизоров ветеринарной медицины и зооинженеров.

Вуз представляет собой академический городок, расположенный в центре города на 17 гектарах земли, включающий в себя единый архитектурный комплекс учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 4 факультета: ветеринарной медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; международных связей, профориентации и довузовской подготовки. В ее структуру также входят Аграрный колледж УО ВГАВМ (п. Лужесно, Витебский район), филиалы в г. Речице Гомельской области и в г. Пинске Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМ и Б).

В настоящее время в академии обучается более 4 тысяч студентов, как из Республики Беларусь, так и из стран ближнего и дальнего зарубежья. Учебный процесс обеспечивают 324 преподавателя. Среди них 180 кандидатов, 30 докторов наук и 21 профессор.

Помимо того, академия ведет подготовку научно-педагогических кадров высшей квалификации (кандидатов и докторов наук), переподготовку и повышение квалификации руководящих кадров и специалистов агропромышленного комплекса, преподавателей средних специальных сельскохозяйственных учебных заведений.

Научные изыскания и разработки выполняются учеными академии на базе Научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии. В его состав входит 2 отдела: научно-исследовательских экспертиз (с лабораторией биотехнологии и лабораторией контроля качества кормов); научно-консультативный.

Располагая современной исследовательской базой, научно-исследовательский институт выполняет широкий спектр фундаментальных и прикладных исследований, осуществляет анализ всех видов биологического материала и ветеринарных препаратов, кормов и кормовых добавок, что позволяет с помощью самых современных методов выполнять государственные тематики и заказы, а также на более высоком качественном уровне оказывать услуги предприятиям агропромышленного комплекса. Активное выполнение научных исследований позволило получить сертификат об аккредитации академии Национальной академией наук Беларуси и Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь в качестве научной организации. Для проведения данных исследований отдел научно-исследовательских экспертиз аккредитован в Национальной системе аккредитации в соответствии с требованиями стандарта СТБ ИСО/МЭК 17025.

Обладея большим интеллектуальным потенциалом, уникальной учебной и лабораторной базой, вуз готовит специалистов в соответствии с европейскими стандартами, является ведущим высшим учебным заведением в отрасли и имеет сертифицированную систему менеджмента качества, соответствующую требованиям ISO 9001 в национальной системе (СТБ ISO 9001 – 2015).

www.vsavm.by

210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11, факс (0212) 51-68-38, тел. 33-16-29 (факультет международных связей, профориентации и довузовской подготовки); 33-16-17 (НИИ ПВМ и Б); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

Учебное издание

Красочко Петр Альбинович,
Максимович Владимир Васильевич,
Синица Николай Владимирович и др.

ХЛАМИДИОЗ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Учебно-методическое пособие

Ответственный за выпуск П. А. Красочко
Технический редактор О. В. Луговая
Компьютерный набор П. А. Красочко
Компьютерная верстка и корректор Е. В. Морозова

Подписано в печать 28.05.2020. Формат 60×84 1/16.

Бумага офсетная. Ризография.

Усл. печ. л. 2,75. Уч.-изд. л. 2,27. Тираж 75 экз. Заказ 2046.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.

ЛП №: 02330/470 от 01.10.2014 г.

Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.

Тел.: (0212) 51-75-71.

E-mail: rio_vsavm@tut.by

<http://www.vsavm.by>