

**Ученые записки УО ВГАВМ, том 44, выпуск 2**

пространственное соответствие к глюкозе у глюкозоузнающих доменов лектинов семян ячменя и фасоли. Следует отметить, что незначительное обесцвечивание йод-крахмального клатратного комплекса в случае использования в качестве преципитина лектинов ячменя косвенно указывает на наличие в экстракте семян моновалентных лектинов. Такие лектины, в свою очередь, не способны к осаждению глюкозных полимеров, однако при этом могут менять пространственную конфигурацию йод-крахмального клатратного комплекса, высвобождая или экранируя ионы йода, что приводит к изменению интенсивности окраски используемого в качестве лиганда йод-крахмального комплекса. Таким образом полученные данные позволяют сделать заключение о том, что лектины ячменя способны сорбироваться на глюкозных детерминантах эритроцитов крупного рогатого скота не вызывая значительную агрегацию последних.

При сопоставлении результатов полученных в ходе турбодиметрии взаимодействия лектинов исследуемых культур и суспензией эритроцитов, а также постановке реакции комплексообразования между лектинами сельскохозяйственных культур и крахмалом йод-крахмального комплекса проявляющейся в виде серологической реакции преципитации, наблюдается схожесть в интенсивности обеих типов реакций.

Высокая гемагглютинирующая и преципитирующая активность лектинов сои и пшеницы, менее выраженная у фасоли и низкая у лектинов семян ячменя позволяет сделать выводы о том, что данные фитогемагглютинины в обоих случаях распознают схожие углеводные участки. Соответственно углеводом, оказывающим основное влияние на формирование агрегатов эритроцитов крупного рогатого скота, который выступает лигандом при взаимодействии с лектинами семян сои и пшеницы является глюкоза, а также ее производные.

**Заключение.** В результате проведенных исследований дана сравнительная характеристика гемагглютинирующей активности фитолектинов некоторых бобовых и зерновых культур по отношению к эритроцитам крупного рогатого скота и преципитирующая с  $\alpha$  1-4 D-глюканом. Интенсивная преципитация  $\alpha$  1-4 D-глюкана наблюдалась при его взаимодействии с лектинами сои и пшеницы, и менее выраженная при взаимодействии с лектинами фасоли и ячменя.

Установлено, что основным структурным элементом гликокалекса эритроцитов, который детектируют фитолектины сои, фасоли, пшеницы и ячменя являются мономеры глюкозы или ее производные.

**Литература.** 1. Игнатов, В.В. Углеводоузнающие белки-лектины / В.В. Игнатов // Соросовский образовательный журнал. –1997.– №2.– С.14–20. 2. Луцки, А.Д. Лектины / Е.Н. Панасюк, М.Д. Луцки.– Львов: Выща школа, 1981. –С.156 3. Луцки, А.Д. Лектины в гистохимии / А.Д. Луцки, Е.С. Детюк, М.Д. Луцки. Львов: Выща школа, 1989. –С.142 4. Лахтин, В.М. Лектины – регуляторы метаболизма /В.М. Лахтин// Биотехнология. 1986 –№ 6. –С.66–69. 5. Кубарев, В.С. Изучение реакции агглютинации лектинов зерновых и бобовых культур с микроорганизмами- возбудителями желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных. / В.С. Кубарев, М.П. Шишлов // Известия Национальной Академии Наук, –2006.– №5.– С.105–107 6. Кубарев, В.С. Перспективы использования лектинов бобовых культур в медицине, ветеринарии и селекции. / В.С. Кубарев, С.А. Добровольский, М.П.Шишлов // Роль молодых ученых в развитии науки: материалы науч.-практ. конф., Великие Луки, 9-12 апреля 2007. –С. 106-112 7. Кубарев, В.С. Определение детерминант – специфичности микроорганизмов вида *Chlamidia psittaci* и вирусов-возбудителей желудочно-кишечных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных с помощью фитолектинов, содержащихся в экстрактах бобовых культур материалах конференции / В.С.Кубарев, П.А. Красочко, С.А. Добровольский, М.П. Шишлов / Биоресурсы и вирусы; мат. междунар. конференц. 10-13 сентября 2007г. / Киевский нац. универ. им. Т. Шевченко – а.Киев, 2007 8. Арора, С.К. Химия и биохимия бобовых растений / С.К.Арора; перевод с англ. Спектров К.С.– Москва; Агропромиздат, 1986.–С.. 222-225 9. Самаль А.Б., Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы. / А.Б.Самаль, Мн., 1990. 10. Губен- Вейель. Методы органической химии: в 6т. / Губен- Вейель.– Москва: Химия, 1967. –6 т. 11. Кубарев, В.С. Лектины семян зерновых и зернобобовых культур и оценка их гемагглютинирующей активности. / В.С. Кубарев, С.А. Добровольский, И.Н. Мисник, М.П. Шишлов // Приложение к журналу Известия Национальной Академии Наук. Биологическая серия 2008г. 12. Ляликов, Ю.С. Физико-химические методы анализа. / Ю.С.Ляликов.– Москва: Химия 1964. –128–246 с. 13. Булатов, М.И., Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа: учебн. пособие./ М.И. Булатов, .И.П. Калинин. –Ленинград: Химия, 1972. 14. Голдштейн, И.Дж. Использование конканавалина А в структурных исследованиях / И.Дж. Голдштейн, Методы исследования углеводов Москва: Мир, 1975 – С. 88-99 Пер.с англ В.А.Несмеянова Под редакц. А.Я. Хорлина

УДК 619:616.98:579.882.11:636.2

### **К ВОПРОСУ ДИАГНОСТИКИ ГЕНИТАЛЬНОЙ ФОРМЫ ХЛАМИДИОЗА У КОРОВ В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ.**

**Кузьмич Р.Г., Кралько Л.В.**

УО Витебская «ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь, 20026

*Проведя аналитический обзор последних публикаций, проанализировав результаты собственных исследований, сделаны выводы о диагностике генитальной формы хламидиоза у коров.*

*Having lead the state of the art review of last publications, having analysed results of own researches, conclusions about diagnostics gynecologic pathology forms of a clamidiosis at cows are made.*

**Введение.** Значительный удельный вес хламидиозов в патологии человека и животных определяет необходимость разработки и совершенствования методов диагностики данных заболеваний. Решающее значение в выявлении хламидийных инфекций имеют методы их лабораторной диагностики.

Хламидии - это микроорганизмы, которым присущи некоторые особенности, важные для диагностики этих инфекций: они, как и вирусы, внутриклеточные паразиты, не размножаются вне клеток макроорганизма человека и животных; имеют уникальный цикл развития, формируя в цитоплазме клеток включения; в процессе

**Ученые записки УО ВГАВМ, том 44, выпуск 2**

репродукции используют ферментные системы клетки-хозяина и не способны к самостоятельному синтезу АТФ; в структурном отношении хламидии близки к грамотрицательным бактериям, содержат ДНК и РНК, обладают цитоплазматической мембраной и клеточной стенкой. У них полностью отсутствует пептидогликановый слой. Подобно грамотрицательным бактериям, они чувствительны к антибактериальным препаратам широкого спектра действия. [4]

Диагноз на хламидиоз устанавливают на основании анализа эпизоотической обстановки, совокупности клинических и патологоанатомических признаков болезни, комплекса лабораторных исследований, позволяющие выявить возбудителя, определить стадию заболевания, выбрать оптимальный план лечебных и профилактических мероприятий.

Лабораторная диагностика при хламидиозах основывается на выявлении возбудителя или его антигенов и антител к нему, а также серологических данных. Методы лабораторной диагностики имеют ряд недостатков: длительность получения ответа, низкая чувствительность и специфичность методов, субъективность оценки результатов исследования.

Серологические методы, благодаря своей высокой чувствительности и специфичности, считаются предпочтительными методами диагностики.

Метод световой микроскопии. Для обнаружения хламидий из доставленного патологического материала готовят мазки или мазки-отпечатки для световой микроскопии. При исследовании материала с помощью световой микроскопии мазки или мазки-отпечатки окрашивают по Стемпу или Романовскому-Гимзе. Метод доступен при острой форме инфекции, менее эффективен при хронической форме заболевания. Ложноположительные результаты связаны с наличием другой микробно-вирусной флоры.

Метод иммунофлуоресценции. Метод перспективен, т.к. прост в выполнении, дает возможность с высокой степенью специфичности определить пути и интенсивность выделения хламидий из организма больных животных, определить степень эпизоотической опасности. По данным многих исследователей, чувствительность и специфичность метода составляет 65-90% и 85-90% соответственно. Недостатки состоят в том, что РИФ требует исполнения опытным, компетентным работником, также получение ложноположительных результатов возможно при низком количестве ЭТ в патматериале, при наличии в образце нежизнеспособных возбудителей или их антигенных структур, а также других бактерий, имеющих перекрестно-реагирующие антигены с антигенами хламидий. [5]

Иммуноферментный анализ. Обладает высокой чувствительностью и специфичностью, возможность исследовать одновременно большое число проб, простота постановки и учета реакции. Чувствительность и специфичность составляет 65-70% и 90-100%. Практическое применение сдерживается отсутствием в достаточном количестве компонентов и оборудования. [10]

Выделение хламидии на лабораторных моделях: тесты на куриных эмбрионах; культуре клеток; биологическая проба. Это наиболее доказательный метод диагностики хламидийной инфекции и широко применяется в практике ветеринарных лабораторий. Недостатком является трудоемкость, высокий риск инфицирования персонала и, следовательно, необходимость проведения работ по выделению возбудителя в специальной режимной лаборатории, длительность (до 6 недель). [5]

Реакция связывания комплемента (РДСК) применяется для выявления антител или антигенов. РДСК является ценным методом при диагностике инфекций, вызываемых *S. psittaci* и *S. pecorum*. [2]

Одной из причин недостаточно высокой эффективности РДСК может быть то, что среди хламидий встречаются слабо вирулентные варианты, редко индуцирующие развитие генерализованной инфекции и не способствующие активному иммунному ответу со стороны организма [12], также широкое использование антибиотиков, влияние которых обнаруживает себя поздним появлением комплементсвязывающих антител в крови больных, низким титром реакций и частым отсутствием его нарастания в динамике. Поэтому необходимо принимать во внимание диагностическую ценность и низких титров РДСК при условии проявления клинических признаков заболевания. Несмотря на высокую специфичность реакции, ее результаты во многом зависят от штамма, который используется в системе.

Иммуноферментный анализ позволяет в течение нескольких часов обнаружить возбудитель (антиген). Данный метод удобен для скрининга, его чувствительность по оценкам разных авторов составляет 80-95%, а специфичность - 90% [2]. По данным авторов, преимущество иммуноферментного диагностического заключения в количественной оценке результатов, полученных на ИФА-ридере; сокращение времени проведения и автоматизация проведения анализа. А.Я. Самуйленко, С.С. Ямникова и др. [8] считают, что чувствительность ИФА значительно превышает таковую в РСК и увеличивает показатель инфицирования животных на 15-19%.

Реакция гемагглютинации. При попадании в организм животного хламидии вызывают образование гемагглютинирующих антител. Несмотря на относительную простоту и большую доступность имеет ряд недостатков. В частности: не всегда позволяют различить перенесенную ранее инфекцию от латентного течения болезни. Нередко хроническое течение болезни можно распознать лишь с помощью определения возбудителя. В некоторых случаях при острой инфекции могут не определяться IgM антитела, даже при выявлении возбудителя; при этом будут высокие титры IgG антител.

В итоге как считают А.А. Шаткин и И.И. Мавров [9] одним из моментов, препятствующий объективной оценке серологических методов диагностики хламидиозов, является «сероположительный фон», который обусловлен широким распространением среди животных и людей хламидиозной инфекции, часто протекающей бессимптомно.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) основан на выявлении хламидиозной ДНК (РНК) в образцах путем спот- и сендвич-гибридизации *in situ* хламидийной и плазмидной ДНК. Принципиально важной особенностью ПЦР является то, что он основан на использовании результата исследования структуры генома микроорганизмов или продуктов его экспрессии - специфических белков. Применение полимеразной цепной реакции для выявления источника возникновения очага инфекции, выделения и изучения возбудителей инфекционных болезней как в течение эпизоотии, так и в межэпизоотический период позволяет следить за изменением генети-

ческой структуры микроорганизма, предсказывать появление его новых вариантов и своевременно создавать адекватные средства защиты и диагностические препараты. [1] При работе методом ПЦР в лаборатории специалист сталкивается с целым рядом проблем: самая существенная - контаминация компонентов реакции и инструментария ранее амплифицированным материалом, поэтому при проведении ПЦР-анализа требуется территориальное разделение выполнения отдельных процедур в лаборатории на 3 зоны; ложноположительные результаты на наличии хламидиоза связаны с невозможностью дифференциации погибших и жизнеспособных хламидий [11].

*Материалы и методы.* Целью наших исследований явилось изучение наиболее эффективных методов диагностики генитальной формы хламидиоза у коров в период беременности, родов и послеродового периода.

Для этого в группах положительно – и отрицательно реагирующих в РДСК животных, находящихся в разных физиологических состояниях - 6 и 8 месяцев беременности, 7 день после отела, отбирали пробы сыворотки крови. Пробы крови брали по общепринятой методике из яремной вены.

В настоящее время в Республике Беларусь в областных лабораториях, в производственных условиях используется метод реакции связывания комплемента с групповым хламидиозным антигеном. РДСК основана на выявлении у больных животных специфических антител к хламидиям в диагностических титрах 1:64 – 1:128.

Исследования проводили в условиях молочно-товарных ферм и комплексов Гомельской и Брестской областей, в условиях клиники кафедры акушерства, гинекологии и биотехнологии размножения животных им. Я.Г. Губаревича УО «ВГАВМ», ЦНИЛ УО «ВГАВМ», ДУ Брестская областная лаборатория, ЛДУ Витебская областная ветеринарная лаборатория.

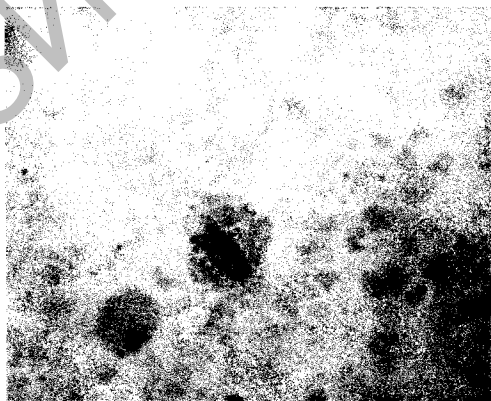
Для серологического исследования в РДСК, в период исследований, направляли сыворотку крови от больных животных с признаками поражения половой системы, абортировавшие, с рождением нежизнеспособного потомства, задержанием последа и т.д. Серологический диагноз на хламидиоз, установленный в РДСК, подтверждали микроскопическим исследованием мазков из соскобов слизистой оболочки шейки матки и матки, после окрашивания по Романовскому— Гимза, Стемпу. Изучение состояния иммунной системы проводили путем обнаружения антител и определения их титра в исследуемых сыворотках крови. Титр иммуноглобулинов класса G, M, A определяли реакцией непрямо́й гемагглютинации с использованием микротитратора Такачи и моноспецифических антисывороток [3].

Также мы определяли относительное и абсолютное количество Т- и В – лимфоцитов, фагоцитарную активность лейкоцитов. Для определения Т-лимфоцитов использовали реакцию розеткообразования с эритроцитами барана; определение В – лимфоцитов проводили с помощью реакции розеткообразования – ЕАС – РОК. Абсолютное количество Т- и В- лимфоцитов вычисляли на основании данных об абсолютном содержании лейкоцитов и относительном количестве лимфоцитов в мазке крови. К «нулевым» лимфоцитам относили клетки, не участвующие в розеткообразовании.

Фагоцитарную активность лейкоцитов определяли по В.С. Гостеву [7] с культурой *Staphylococcus albus* штамм – 209 – Б. Оценку фагоцитоза определяли по фагоцитарной активности нейтрофилов и фагоцитарному числу.

*Результаты.* Для исследований были отобраны коровы (111 животных), у которых отмечались ранее нарушения течения беременности, послеродового периода: аборт, выделения гнойно-катарального экссудата из матки в конце беременности, послеродовой гнойно-катаральный эндометрит.

Пробы сыворотки крови для постановки РДСК от больных коров брали в 6 месяцев беременности, 8 месяцев и через 7 дней после родов. По результатам исследований в 6 месяцев беременности положительно - реагирующих в РДСК выявлено 31 животное (27,9%), в 8 месяцев беременности 28 коров (25,2%) и через 7 дней после родов 34 коровы (30,6%). В мазках - соскобах у всех реагирующих животных были обнаружены элементарные тельца хламидий: при окраске по методу Романовского — Гимза - красно-фиолетовые (рис.); по методу Стемпа - красные на сине-зеленом фоне.



Окраска соскобов со слизистой оболочки цервикального канала по методу Романовского — Гимза

За положительно - реагирующими в РДСК животными велось наблюдение в течение беременности и послеродового периода. При этом отмечалось, что у 6 коров (19,4%) были зарегистрированы аборты в 7-8 месяцев беременности, у 12 животных (48%) отмечалось выделение гнойно-катарального экссудата за 1-2 недели перед родами. У 19 (76%) животных отмечалось задержание последа, 24 коровы (96%) заболели послеродовым гнойно-катаральным эндометритом или вагинитом. У положительно – и отрицательно - реагирующих в РДСК коров в сыворотке крови динамика иммуноглобулинов следующая: титр иммуноглобулинов G в сыворотке крови обеих групп в период 6 – 8 мес. беременности достоверно не отличался и находился в пределах:  $2,6 \pm 0,02 \log^2$  - в группе коров положительно - реагирующих в РДСК и соответственно  $3,1 \pm 0,02 \log^2$  в группе коров отрицатель-

**Ученые записки УО ВГАВМ, том 44, выпуск 2**

но - реагирующих в РДСК. Через 7 дней после родов наблюдалось повышение титра иммуноглобулинов G в первой группе (положительно-реагирующие в РДСК) на 12,8% и во второй – на 39,0 %. Такая же закономерность наблюдалась и в динамике титра иммуноглобулина M. Через 7 дней после родов титр этого иммуноглобулина составил в первой группе  $2,7 \pm 0,03 \log^2$ , во второй  $3,5 \pm 0,02$ . В динамике сывороточного иммуноглобулина A в сухостойный период достоверных изменений не наблюдалось, и титр его находился в пределах  $2,1 \pm 0,02 - 2,5 \pm 0,02 \log^2$  - в первой группе коров и  $2,1 \pm 0,02 - 2,7 \pm 0,02 \log^2$  во второй группе. Отмечено снижение титра иммуноглобулина A в сыворотке крови коров первой группы на 7 день после родов, что было связано с высокой заболеваемостью коров в этой группе послеродовыми эндометритами.

При изучении относительного и абсолютного количества лимфоцитов в крови коров было установлено, что в период 6 месяцев беременности у положительно и отрицательно-реагирующих коров в РДСК общее количество лимфоцитов существенно не менялось и составило в первой группе  $4,27 \pm 0,11$  и во второй –  $4,77 \pm 0,15$  гига/л ( $P > 0,05$ ). В период 8 месяцев беременности количество лимфоцитов в первой группе возросло на 20% ( $P < 0,01$ ), а во второй – на 25,5% ( $P < 0,01$ ). На 7 день после родов отмечалось снижение количества лимфоцитов в обеих группах соответственно на 22,6 % и 16,6%, что составило  $4,40 \pm 0,15$  и  $3,84 \pm 0,07$  гига/л. Кроме этого в послеродовой период у животных обеих групп отмечалось повышение T - лимфоцитов. Однако их абсолютное и относительное количество было ниже в первой группе ( $P < 0,01$ ). Количество B – лимфоцитов у коров первой группы было ниже, чем второй на 7 день после родов, что можно объяснить, как ответную реакцию организма на более высокую заболеваемость эндометритами в этой группе.

**Заключение.** В результате комплексного использования РДСК, на основании анализа клинических и гистологического исследований, изучения состояния иммунной системы и неспецифической резистентности организма можно успешно проводить диагностику генитальной формы хламидиоза у коров.

**Литература.** 1. Белоусов В.И. и др. Актуальные проблемы лабораторной диагностики заразных болезней животных. Ветеринария, 1999, 7: 3-4. 2. Гранитов В.М. Хламидиозы, 2000: 192 с. 3. Дяченко Н.С. Пассивная гемагглютинация и ее применение в вирусологии. Киев: Наукова думка, 1979. – 144с. 4. Колкова Н.И., Мартынова В.Р. К вопросу диагностики хламидийных инфекций. Клини. лаб. диагност., 1998, 2: 20-21. 5. Обухов И.Л. и др. Орнитоз, 1998: 54 с. 6. Новиков А.И., Охлопков В.А., Шитова В.Б., и др. Тез. Докладов Сибирской научно-практической конференции дерматовенерологов «современные направления в диагностике и лечении урогенитального хламидиоза». – Новосибирск, 1998. – с.20. 7. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. – Л.: «Колос», 1979.-181 с. 8. Самуйленко А.Я., Ямникова С.С. и др. Выявление антител к *Chlamydia* в сыворотках крови сельскохозяйственных животных. «Научные основы производства вет. биолог. препаратов». Тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф., посвященном 30-летию ин-та, Щёлково, 2000: 195-196. 9. Шаткин А.А., Магров И.И. Урогенитальные хламидиозы, 1983: 200 с. 10. Шафикова Р.А. Иммунобиологическая характеристика хламидий, усовершенствование методов и средств лабораторной диагностики хламидиозов: Автореф. дис. ... докт.вет.наук.- Казань, 1991. – с.38. 11. Goessens W.H. et al. J. Clin. Microbiol., 1995, с. 251-253. 12. Wehr J. et al. Klinisch-epizootiologische Untersuchungen zur Chlamydieninfektion in einem Kalber und einem Jungrinderbestand. Mh. Veter.-Med., 1985, 40, 15: 508-511.

УДК 619:614.31:637.5

**ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ПРОДУКТОВ УБОЯ ОВЕЦ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ ЦИНКА**

**Курдеко А.П., Ковалёнок Ю.К., Мацинович А.А., Голубь А.А., Николаенко С.А., Пахомов П.И., Бондарь Т.В., Богомольцев А.В.**

УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», г.Витебск, Республика Беларусь, 210026

Работа посвящена изучению ветеринарно-санитарных показателей продуктов убоя овец при назначении им микроэлементов в различных формах. Изучение влияния хелатных форм микроэлементов на качество животноводческой продукции проведено в сравнении с препаратами, в которых микроэлементы находятся в виде солей. В качестве модельного препарата, для изучения влияния хелатных на качество животноводческой продукции использовали хелатную форму цинка – «Цинковит». Результаты исследований показывают, что использование хелатных и неорганических форм цинка не снижает доброкачественности получаемой продукции. Мясо овец опытных групп по органолептическим, бактериологическим и физико-химическим показателям, а также биологической ценности и безвредности характеризуется как доброкачественное и соответствует ветеринарно-санитарным требованиям.

The article is devoted to veterinary-sanitary data studying of sheep product after trace elements different forms administration. Study of trace elements chelat forms influence on animal products quality had been conducted in comparison with salt medicines of such elements. As a model for study of chelat form on animal products "Zincovit" had been used. The result of researches shows that chelat and salt form of Zn don't decrease the quality of products. Meat of sheep in experienced groups is high-quality and meets all veterinary-sanitary requirements concerning organoleptic, bacteriologic, physico-chemical and other indices.

**Введение.** Для повышения эффективности работы животноводства перед ветеринарной медициной стоит задача по профилактике и снижению негативных последствий от массово протекающих заболеваний обмена веществ животных. Одной из наиболее важных проблем является недостаточность микроэлементов, которая широко распространена среди поголовья рогатого скота и свиней сельскохозяйственных предприятий Республики Беларусь. Субклинические нарушения обмена микроэлементов регистрируются у 79,3 % крупного рогатого скота и у 72,8 % свиней на откорме. При этом одним из наиболее распространённых гипомикроэлементозов