

лейкозних оздоровчих заходів, контролю поступово-тичного благополуччя, дотриманню регламентованих сучасним законодавством вимог стосовно вилучення вірусноносіїв з господарств різного підпорядкування та профілактики захворювання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Інструкція по профілактиці та оздоровленню великої рогатої худоби від лейкозу: затв. Наказом Гол. упр. вет. медицини з держ. вет. інспекцією 28.09.1992., № 15-15/220.- К., 1992.- 10 с.
2. **Никифорова В.Л.** Показатели естественной резистентности организма крупного рогатого скота инфицированного вирусом лейкоза // *Труды ВНИИЭВ им. Я.Р. Коваленко.- М., 1999.- Т. 72 - С. 103-108.*
3. **Горбатенко С.К.** та ін. Вивчення елементів імуносупресивного стану у молодняка великої рогатої худоби під впливом асоціації вірозів // *Наук-техн. бюл. ІБТ і ДНДКІВКД.- Львів, 2009.- Вип.10., №4.- С. 248-254.*
4. **Bartlett P.C.** et al. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle // *JAVMA.- 2014.- Vol. 244, №8.- P. 914-922.*
5. Інструкція з профілактики та оздоровлення великої рогатої худоби від лейкозу: затв. наказом Держ. ком. вет. медицини України 21.12.2007, № 21; зареєстр. в Мін. юстиції України 11.01.2008 р., № 12/14703.- К., 2008.- 8 с.

Сучасні методи діагностики токсоплазмозу котів

Анотація. Наведено результати досліджень котів різного віку з метою встановлення діагнозу на токсоплазмоз. Застосовано сучасні тест-системи зарубіжних виробників.

Ключові слова: токсоплазмоз, коти, діагностика, тест-системи, імуноферментний аналіз, імунохроматографічний аналіз.

Abstract. The results of investigations of different age groups cats in order to establish the diagnosis on toxoplasmosis are presented. Was used modern test kits of foreign manufacturers.

Key words: toxoplasmosis, cats, diagnostics, test kits, enzyme immunoassay, chromatographic immunoassay.



М. ГАЛАТ, канд. вет. наук
Національний університет біоресурсів
і природокористування України

Токсоплазмоз – поширена інвазійна хвороба тварин та людини [1]. Збудником хвороби є одноклітинний організм із групи цистоутворюючих кокцидій *Toxoplasma gondii*. Майже всі види тварин, а також і людина, є проміжними носіями токсоплазм. У ролі дефінітивного хазяїна виступають лише представники родини котячих (Felidae). В синантропному вогнищі це домашня кішка. Остання є важливим джерелом інвазії для людини [8].

У гострий період інвазії представники родини котячих виділяють у навколишнє середовище мільйони ооцист. Саме тому важливого значення набуває вчасна діагностика токсоплазмозу серед котів і у разі виявлення хвороби – подальше лікування [3,5].

Рецензенти: докт.біол.наук. **В.В. Корнюшин**, Інститут зоології ім. І.І.Шмальгаузена; канд.вет.наук. **О.П.Литвиненко**, Державний НДІ з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи.

Таблиця 1
Результати досліджень котів притулку і тварин приватних власників на токсоплазмоз (n=56)

Реакція	Коти притулку		Коти приватних власників	
	кількість тварин	у %	кількість тварин	у %
Позитивна	18	85,7	17	48,6
Сумнівна	2	9,5	2	5,7
Негативна	1	4,8	16	45,7
Всього	21	100,0	35	100,0

Зажиттєво діагноз на токсоплазмоз встановлюють лабораторними методами [2]. Для дослідження котів можна використовувати копроскопічні методи. Вони дають змогу встановити за наявності ооцист токсоплазм гостру стадію хвороби. Однак, їх відсутність при копроскопічних дослідженнях не гарантує повного виключення токсоплазмозної інвазії [4]. Це пов'язано з тим, що період виділення ооцист з фекаліями у котів порівняно короткий [7].

Останнім часом широкого застосування набули серологічні методи діагностики, зокрема, імунохроматографічний аналіз (ІХА). Цей метод ґрунтується на принципі тонкошарової хроматографії. Його суть полягає у реакції між антигеном і відповідними йому антитілами у біологічних матеріалах. При цьому за позитивної реакції утворюється так званий «сендвіч» антитіло-антиген-антитіло-мітка. Нині цей метод широко використовують для виявлення вірусів, різних гормонів (наприклад, у тестах на вагітність), збудників інших інфекційних захворювань. Його перевагою є простота і швидкість застосування, можливість візуальної оцінки результату без використання специфічних дорогих приладів. Він може бути проведений у будь-яких умовах, у т.ч. «польових» [6].

Мета роботи - проведення обстеження котів на токсоплазмоз за використання тест-систем різних виробників.

Упродовж 2012-2014 рр. досліджено сироватки крові 56 котів віком від 2 до 10 років за різних умов їх утримання. З них 35 – від тварин, власниками яких були мешканці м. Києва і Київської області, а 21 – приватного притулку для тварин. Отриману сироватку зберігали за -20° С. В експериментах використовували тест-системи для імуноферментного визначення сумарних антитіл до *T. gondii* «ВектоТоксо-антитела» (Російська Федерація), набір реагентів з метою виявлення антитіл методом імуноферментно-

го аналізу «ТоксоплаСтрип» (виробник – фармацевтична, біотехнологічна і медична компанія на базі Науково-дослідного інституту епідеміології і мікробіології імені М.Ф. Гамалей Російської академії медичних наук ТОВ «НІАРМЕДІК ПЛЮС», Російська Федерація) і тест-систему «ID Screen» *Toxoplasmosis Indirect Multi-species* (виробник – «ID.vet», Франція). Із загальної кількості сироваток крові 11 паралельно дослідили методом імунохроматографічного аналізу з використанням системи «Feline Toxo & Chlamydomphila Ab. Test Kit» (Biogal Galed Labs, Ізраїль).

Результати власних досліджень. З дослідженої за допомогою імуноферментного аналізу загальної кількості сироваток крові котів позитивними виявилися 35 (62,5 %), сумнівними – 4 (7,1 %). Негативно прореагували 17 тварин (30,4 %).

Позитивні результати були зафіксовані у 18 котів притулку, що становило 85,7 %. При цьому сумнівно прореагували сироватки крові від 2 тварин (9,5 %) і від однієї (4,8 %) – негативно.

Позитивні результати щодо виявлення антитіл до *T. gondii* зареєстровано серед 17 котів (48,6 %), що належали приватним власникам. Це на 37,1 % менше, ніж серед тварин притулку. Сумнівні результати були отримані при дослідженні сироваток крові від 2 тварин (5,7 %), що на 3,8 % менше, ніж серед котів притулку. Негативна реакція зафіксована у 16 випадках (45,7 %). Цей результат виявився на 40,9 % більшим порівняно з аналогічним показником, одержаним при дослідженні тварин, яких утримували в притулку (табл. 1).

Таким чином, ураженість котів приватного притулку виявилася значно вищою ніж тварин, власниками яких були мешканці населених пунктів. Це можна пояснити більш сприятливими умовами для перезараження котів у притулках для їх утримання.

З метою встановлення різниці в ураженні токсоплазмами тварин різної статі за допомогою імуноферментного аналізу досліджено 10 самок і 15 самців котів, що належали приватним власникам. Із них 6

Ураженість токсоплазмами котів різного віку (n=25)

Вік тварини	Кількість тварин у групі	Позитивна реакція		Негативна реакція	
		кількість тварин	у %	кількість тварин	у %
До 2 років	5	2	40	3	60
Від 2 до 10 років	10	3	30	7	70
Старше 10 років	10	6	60	4	40
Всього	25	11	44	14	56



самок (60 %) позитивно прореагували на токсоплазмоз. У 4 (40 %) – зафіксовано негативну реакцію. В той же час серед досліджених самців позитивну реакцію було встановлено лише у 5 тварин (33,3 %). Решта 10 котів (66,7 %) негативно прореагували щодо наявності в їх організмі антитіл токсоплазм. Таким чином, у самок частіше реєстрували позитивні реакції на токсоплазмоз ніж у самців. Це можна пояснити стресовими ситуаціями, які частіше виникають у самок, зокрема родами.

Нами зареєстровано підвищення екстенсивності токсоплазмозної інвазії котів з віком. Зокрема, тварини старше 10 років були уражені на 30 % більше, ніж коті у віці від 2 до 10 років (табл. 2).

Паралельно з методом імуноферментного аналізу досліджено сироватки крові імунохроматографічним методом з використанням ізраїльської тест-системи.

При цьому було встановлено, що 6 сироваток крові позитивно прореагували при їх дослідженні обома методами. Водночас 5 сироваток крові, у яких був зафіксований негативний результат за методом імуно-

ферментного аналізу, лише 2 виявилися негативними за методом імунохроматографії. В 3 останніх був зафіксований сумнівний результат.

Таким чином, останній метод є більш ефективний при постановці діагнозу на токсоплазмоз.

Висновки

1. Імунохроматографічний та імуноферментний аналізи – високоефективні засоби для захиттєвої діагностики токсоплазмозу котів.

2. У притулку для тварин серед котів зареєстрована висока ураженість збудниками токсоплазмозу (до 85,7 %).

3. Менш ураженими збудниками токсоплазмозу (48,6 %) виявилися коті, власниками яких є окремі мешканці Київщини.

4. З віком ураженість котів збудниками токсоплазмозу зростає.

Перспективи подальших наукових досліджень – наукове обґрунтування технології виготовлення вітчизняної тест-системи для діагностики токсоплазмозу тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Berger-Schoch A.E., Herrmann D.C., Schares G. et al.** Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland // *Vet. Parasitol.*– 2011.– №177 (3-4).– P. 290–297.
2. **Dubey J.P., Prowell M.** Ante-mortem diagnosis, diarrhea, oocyst shedding, treatment, isolation, and genetic typing of *Toxoplasma gondii* associated with clinical toxoplasmosis in a naturally infected cat // *J. Parasitol.*– 2013.– Vol. 99(1).– P. 158–160.
3. **Dubey J.P., Pas A., Rajendran C. et al.** Toxoplasmosis in Sand cats (*Felis margarita*) and other animals in the Breeding Centre for Endangered Arabian Wildlife in the United Arab Emirates and Al Wabra Wildlife Preservation, the State of Qatar // *Vet. Parasitol.*– 2010.– №172(3-4).– P. 195–203.
4. **Glor S.B., Edelhofer R., Grimm F. et al.** Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of antibodies against *T. gondii* in serum plasma and meat juice of experimentally and natural infected animals // *Parasites & Vectors.*– 2013.– № 6.– 11p.
5. **Nagel S.S., Williams J.H., Schoeman J.P.** Fatal disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent cat // *J. S. Afr. Vet. Assoc.*– 2013.– Vol. 14;84(1).– P. 1–6.
6. **Reyes M.F., Guevara V.G., Roque DG. S. et al.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in domestic short-haired cats (*Felis catus*) in a wildlife facility in Manila // *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.*– 2013.– №39 (1).– P. 99–106.
7. **Spada E., Proverbio D., della Pepa A. et al.** Seroprevalence of feline immunodeficiency virus, feline leukaemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray cat colonies in northern Italy and correlation with clinical and laboratory data // *J. Feline Med. Surg.*– 2012.– №14(6).– P. 369–377.
8. **Westling K., Jorup-Rönström C., Evengård B.** Toxoplasmosis not transmitted by cat bite, but high prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in patients bitten by their own cat // *Scand. J. Infect. Dis.*– 2010.– Vol. 42(9).– P. 687–690.

Я. ХОМЕНКО, аспірант
Національний університет біоресурсів і природокористування

Розробка маркерів (міток) для імуноаналізу розпочалася ще у 70-х роках минулого століття. Серед найбільш успішних та перспективних, які набули широкого застосування, можна відзначити колоїдне золото та колоїдне вугілля.

Відомості про використання колоїдного вугілля у формі «туш» в імунології з'явилися ще в 1970 році [1-3].

У 1993 році Ван Амеронген із співавторами описав використання колоїдних частинок вуглецю в якості нових міток для експрес-тестів в імунологічних дослідженнях. Вугільні частинки також застосовують в твердофазному імуноаналізі [4].

На відміну від колоїдного золота, у якому сполучення білка та колоїдного золота відбувається майже миттєво, адсорбція на колоїдному вугліці займає більше часу - від однієї до кількох годин.

До переваг колоїдного вугілля можна віднести його стабільність та високу контрастність кольору на мембрані.

При розробці діагностичної тест-системи на лейкоз ВРХ використовували відповідний видоспецифічний антиген, який містив два рекомбінантних білки - р 24 і гр 51. Встановлено, що в сироватці крові і в молоці з'являються переважно антитіла до р 24 і в дещо меншій кількості - до білка гр 51 [5].

Метою роботи було отримання кон'югату колоїдного вугілля з білком *G Streptococcus spp.*, як компонента діагностичної тест-системи на основі дот-імуноаналізу.

У роботі використані наступні речовини: вугілля Special black 4 (25 нм) (Specialschwarz); рекомбінантний видоспецифічний антиген лейкозу ВРХ, білок *G Streptococcus spp.*; хімічні реактиви вітчизняного та іноземного виробництва з кваліфікацією не нижче "ч.д.а"; листовий білий полістирол (НІРС) завтовшки 0,2 мм; скло-волокно (КіпВіо, Китай), нітроцелюдозна мембрана (Міліпоре, США); позитивні та негативні щодо лейкозу ВРХ референс-сироватки, отримані з МЕБ референс-центру (Великобританія).

Білок *G Streptococcus spp.* в концентрації 10 мг/мл попередньо діалізували проти 2,5 мМ Tris-HCl буфера зі значенням рН 8,0.

Для одержання кон'югату додавали 50 мг препарату вугілля Special black 4 (25 нм) до 5 мл дистильованої води, ретельно суспендували та гомогенізували за допомогою УЗДН-2Т (15МА, 6 раз по 20 сек з перервами, за температури 0°C).

Готовий препарат зберігали за температури +4°C без доступу світла.

Науковий керівник - докт. вет. наук **В.Г. Скибіцький**