

во-вторых: постоянно определять наличие биомаркера и проводить исследование сывороток крови целевых видов животных;

в-третьих: тщательного проведения эпизоотического мониторинга изучаемых территорий.

Список литературы

1. Rabies: Guidelines for Medical Professionals, Trenton, USA, 1999. — P. 80. 2. Rabies bulletin Europe. Volum 28 No 4 Quarter 4 2004. 3. Головки, А.М., Блоцька, О.Ф., Романенко О.А. Антирабійні вакцини: вчора, сьогодні, завтра // Матеріали II міжнародного конгресу спеціалістів ветеринарної медицини, 3-4 серпня 2004 р. — Київ. — 2004. С. — 79-80. 4. Laboratory techniques in rabies. 4th edition, WHO, Geneva, 1996, 470 p. 5. OIE Manual of Standards of Diagnostic Tests and Vaccines. 5th Edition, 2004

ORAL IMMUNOPROPHYLAXIS OF RABIES BY VACCINE «BROVARIS VRG» IN MODERN CONDITIONS

Nychyk S.A.

Kharkiv State Zooveterinary Academy

Solodchuk V.L.

State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kiev

Information concerning advantage of oral immunoprophylaxis of rabies by vaccine «Brovaris VRG» in modern conditions is presented in the paper.

УДК 619:579.887.111:616-078:636.2

ПРИЖИТТЄВА ДІАГНОСТИКА МІКОПЛАЗМОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ РІЗНИХ СХЕМ ПІДГОТУВАННЯ ПРОБ ПАТОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Орлов С.М., Обуховська О.В., Глебова К.В.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Доведено, що найефективнішим при проведенні досліджень проб патологічного матеріалу від ВРХ на мікоплазмоз було використання транспортного середовища з додаванням пеніциліну, стрептоміцину та ністатину. Одно разове або дворазове замороження проб патологічного матеріалу не призводить до інгібіції супроводжувальної мікрофлори але й не пригнічує росту мікоплазм. Найефективнішою визнана схема з використанням одноклонової інкубації проби у транспортному середовищі з послідовним пересівом на діагностичні середовища.

За останній час в Україні та інших країнах СНД при диференційній діагностиці змішаних інфекцій великої рогатої худоби в господарствах виявляються стаціонарно неблагополучні стада з однією або двома-трьома інфекційними хворобами вірус-бактерійної етіології (ІРТ-ВД, ІРТ-ВД-мікоплазмоз та ін.). Близько чверті досліджуваних тварин (від 3,5 до 34,4 %) [1, 2, 3] є мікоплазманосіями, за умов дії стрес-факторів (порушення умов годівлі й утримання тварин) така форма перебігу інфекції ускладнюється вірусною або бактеріальною мікрофлорою. В таких випадках реєструють нетипову клінічну картину, що значно ускладнює первинну діагностику і призводить до помилкових рішень у призначенні терапевтичних заходів. Усе це спричиняє зниження продуктивності, безпліддя та, як наслідок, передчасну вибраковку тварин.

Особливості будови клітини мікоплазм, зокрема, відсутність клітинної стінки, зумовлюють низький рівень життєздатності цих мікроорганізмів у зовнішньому середовищі. Особливу проблему складає процес зберігання збудника в пробах патологічного матеріалу, який доставляється до діагностичного закладу [4, 5]. Забій дрібних тварин і відбір проб патологічного матеріалу здійснюється безпосе-

редньо в лабораторії, в такому разі процес підготування матеріалу до ізоляції є не тривалим, що значно підвищує ефективність діагностичних досліджень [6].

Однак, запропонований метод є неприйнятливим при проведенні досліджень щодо великої рогатої худоби (ВРХ). За умов відсутності загиблих тварин, до лабораторії надсилають мазки (або зшкрібки) з слизових оболонок носоглотки або піхви. При цьому значно підвищується ймовірність контамінації проб банальною мікрофлорою. Запропоновані раніше бактеріальні та грибові інгібітори в середовищах для культивування мікоплазм мають не дуже велику бактерицидну активність, а деякі з них не виготовляють вітчизняні біопідприємства. Вирішення проблеми полягає в розробці спеціального транспортного середовища, схеми відбору та підготовки проб патологічного матеріалу при дослідженні на мікоплазмоз ВРХ.

З цією метою було проведено порівняльне вивчення ефективності застосування рідких поживних середовищ з додаванням антибіотиків та ацетату талія для транспортування проб патологічного матеріалу від ВРХ і різних схем попередньої обробки проб при дослідженні на мікоплазмоз.

Матеріали і методи. В дослідях в якості транспортних середовищ (ТС) використовували: **№ 1** – ТС з додаванням пеніциліну (1 млн ОД на 1000 см³) та 0,025 % талія ацетату; **№ 2** – ТС з додаванням пеніциліну (1 млн ОД на 1000 см³); **№ 3** – ТС з додаванням пеніциліну та стрептоміцину (по 1 млн ОД на 1000 см³); **№ 4** – ТС з додаванням пеніциліну та стрептоміцину (по 1 млн ОД на 1000 см³), ністатину (500 тис ОД на 1000 см³); **№ 5** – ТС Едварда з додаванням 20 % стерильної сироватки крові коня, 10 % автолізу пекарських дріжджів, 0,025 % талія ацетату [4]; **контроль** – фосфатно-буферний фізіологічний розчин (ФБФР, рН 8,0) із додаванням пеніциліну (1 млн ОД на 1000 см³).

В якості основи для поживних середовищ № 1-4 використовували триптичний гідролізат серцевих м'язів ВРХ із вмістом 200 мг % амінного азоту з додаванням 10 % гідролізату печінки ВРХ (з вмістом 130 мг % амінолізину), 5 % автолізу пекарських дріжджів, 3,5 % триптофану, 0,5 % пептону, 20 % сироваткового альбуміну ВРХ, 0,025 % НАДН (середовище ННЦ "ІЕКВМ") [6].

Транспортні середовища розфасовували у стерильні пробірки по 3,0-4,0 см³. Відбір мазків зі слизової оболонки переддвір'я піхви у 12 корів з патологіями репродуктивних органів (вувльовагініти, ендометрити, подовженість сервіс-періода, аборти) та мазків зі слизової оболонки носа у 5 хворих телят (риніт, діарея) з 2-х господарств Харківської області (СТОВ "Агросет" (госп. № 1), ДПДГ "Кутузівка" (госп. № 2) проводили за стандартною методикою. Від однієї тварини відбирали одночасно 5 проб, що поміщали до різних ТС, які доставляли в лабораторію в термосі з льодом через 3-4 год після взяття. Далі проби інкубували впродовж 1-ї доби за температури (37,5±0,5)°С. Після цього матеріал переносили до пробірок з діагностичним поживним середовищем в об'ємі 0,5 см³. Режим інкубування посівів – 5 діб за температури (37,5±0,5)°С, за яким проводили 2-3 пасажі. Контроль інтенсивності росту культур перевіряли кожну добу візуально. Мікроскопію мазків проводили після фарбування за Романовським-Гімза та Грамом.

Одночасно випробували різні схеми попередньої обробки проб патологічного матеріалу від даних тварин при дослідженні на мікоплазмоз: **схема I** – відбір мазків зі слизової оболонки стерильним квачем, розміщення квача у пробірці з ТС № 1 або № 4, інкубація проби впродовж 1-ї доби у ТС, пересів матеріалу до діагностичного середовища, подальша ізоляція за стандартною методикою; **схема II** – відбір мазків зі слизової оболонки квачем, зволоженим ТС № 1; розміщення квача в сухій стерильній пробірці, заморожування квача впродовж 18-20 годин у морозильній камері за температури мінус (18-20)°С, відтавання проби та пересів матеріалу до діагностичного середовища, подальша ізоляція; **схема III** – відбір мазків зі слизової оболонки квачем, зволоженим ТС № 1 або № 4; розміщення квача в сухій стерильній пробірці, дворазове заморожування-відтавання проби, остаточне відтавання проби та пересів матеріалу до діагностичного середовища, подальша ізоляція.

Результати досліджень. При дослідженні проб патологічного матеріалу (мазків зі слизової оболонки піхви від корів госп. № 1) за схемою I було ізольовано мікоплазми та супутню мікрофлору (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати ізоляції мікоплазм від ВРХ (госп. № 1) при застосуванні різних транспортних середовищ

Інв. № корови	Транспортне середовище		Діагностичні середовища		Виділені культури
	ТС*	24 год інкубації	мікоплазми	с.м.	
3181	№ 1	-	-	+	<i>S.caprae</i> , Д.Г.
	№ 2	-	-	+	<i>S.caprae</i> , <i>A.faecalis</i> , Д.Г.
	№ 3	+	+	+	Мyc. , <i>S.caprae</i>
	№ 5	-	-	+	<i>S.caprae</i> , Д.Г.
	Контроль	-	-	+	<i>S.caprae</i> , <i>A.faecalis</i> , Д.Г.
3224	№ 1	-	-	+	<i>S.caprae</i> , Д.Г.
	№ 2	-	-	+	
	№ 3	-	+	+	Мyc. , <i>S.caprae</i>
	№ 5	-	-	+	<i>S. caprae</i> , Д.Г.
	Контроль	-	-	+	
3326	№ 1	-	-	+	<i>S.saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 2	-	-	+	<i>S.saprophyticus</i> , <i>A.faecalis</i> , Д.Г.
	№ 3	-	-	+	<i>S.saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 5	-	-	+	<i>S.saprophyticus</i> , Д.Г.
	Контроль	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> <i>A. faecalis</i> , Д.Г.
б/н	№ 1	+	+	-	Мyc.
	№ 2	+	+	+	Мyc. , <i>C.diversus</i> <i>S.saprophyticus</i>
	№ 3	+	+	-	Мyc.
	№ 5	+	+	+	Мyc. , <i>S.saprophyticus</i>
	Контроль	-	-	+	<i>S.saprophyticus</i> , <i>C.diversus</i> , Д.Г.
3718	№ 1	+	+	-	Мyc.
	№ 2	+	+	+	Мyc. , Д.Г., <i>S. saprophyticus</i>
	№ 3	+	+	+	Мyc. , <i>S.saprophyticus</i>
	№ 5	+	+	+	Мyc. , Д.Г.
	Контроль	-	-	-	<i>S.saprophyticus</i> , Д.Г.
3710	№ 1	+	+	-	Мyc.
	№ 2	+	+	+	Мyc. , <i>S.caprae</i> , <i>C.diversus</i> , Д.Г.
	№ 3	+	+	-	Мyc.
	№ 5	+	+	+	Мyc. , <i>S.caprae</i> , Д.Г.
	Контроль	-	-	+	<i>S.caprae</i> , Д.Г., <i>C diversus</i>

Примітка: * склад середовищ наведено в матеріалах і методах;
с.м. - супутня мікрофлора; Д.Г. – дріжджоподібні гриби

Бактеріальна мікрофлора була типована до виду, вона була представлена стафілококами (*Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus saprophyticus*), ентеробактеріями (*Citrobacter diversus*), неферментуючими аеробами (*Alcaligenes faecalis*) та дріжджоподібними грибами.

Найбільш ефективними при проведенні діагностичних досліджень за схемою І були ТС з додаванням пеніциліну та талія ацетату (№ 1) і пеніциліну та стрептоміцину (№ 3), з 40-50 % яких виділили тільки культури мікоплазм. З ТС № 3 були ізольовані мікоплазми з супутньою бактеріальною мікрофлорою у 50 % проб патологічного матеріалу, а з 50 % ТС з додаванням пеніциліну (№ 2) – мікоплазми з бактеріальною та грибовою мікрофлорою, що ускладнювало культивування мікоплазм. Не виділили мікоплазми в усіх пробах патологічного матеріалу після транспортування їх у ФБФР з додаванням пеніциліну, подальшої інкубації в термостаті впродовж доби та пересіву на діагностичні середовища.

Таблиця 2 – Результати ізоляції мікоплазм від ВРХ (госп. № 2) при застосуванні різних транспортних середовищ

Інв. № корови	Транспортне середовище		Діагностичні середовища		Виділені культури
	ТС	24 год інкубації	мікоплазми	с.м.	
7555	№ 1	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i>
	№ 3	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i>
	№ 4	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>S. saprophyticus</i>
	Контроль	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i>
1935	№ 1	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 3	+	+	-	<i>Мyc.</i>
	№ 4	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>S. saprophyticus</i>
	Контроль	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i> , Д.Г.
1563	№ 1	+	+	+	<i>Мyc.</i> , Д.Г.
	№ 3	+	+	+	<i>Мyc.</i> , Д.Г.
	№ 4	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>E. coli</i>
	Контроль	-	-	+	<i>E. coli</i> , Д.Г.
6181	№ 1	+	+	+	<i>Мyc.</i> , Д.Г., <i>S. saprophyticus</i>
	№ 3	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 4	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>S. saprophyticus</i>
	Контроль				<i>E. coli</i> , Д.Г., <i>S. saprophyticus</i>
2766	№ 1	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 3	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>S. saprophyticus</i>
	№ 4	+	+	+	<i>Мyc.</i> , <i>S. saprophyticus</i>
	Контроль	-	-	+	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i> , Д.Г.
5314	№ 1	-	-	-	<i>S. saprophyticus</i> , Д.Г.
	№ 3	-	-	-	
	№ 4	-	-	-	<i>S. saprophyticus</i>
	Контроль	-	-	-	<i>S. saprophyticus</i> , <i>E. intermedius</i> , Д.Г.

При дослідженні корів (госп. № 2) з 41,6 % проб патологічного матеріалу були ізольовані мікоплазми.

Бактеріальна мікрофлора була представлена стафілококами (*Staphylococcus saprophyticus*), ентеробактеріями (*Enterobacter intermedius*, *Escherichia coli*) та дріжджоподібними грибами (табл. 2).

Найбільш ефективним було застосування ТС із додаванням пеніциліну та стрептоміцину (№ 3), при цьому з 20 % проб ізолювали чисті культури мікоплазм.

З ТС з додаванням пеніциліну, стрептоміцину та ністатину (№ 4) виділили мікоплазми з супутньою бактеріальною мікрофлорою (без дріжджоподібних грибів) у 80 % проб патологічного матеріалу. Тільки з 40 % проб із ТС №№ 1 і 3 були ізольовані мікоплазми з супутньою бактеріальною та грибовою мікрофлорою.

При дослідженні проб патологічного матеріалу (мазків зі слизової оболонки носа) від 5 хворих телят (госп. № 2) концентрація супутньої бактеріальної і грибової мікрофлори виявилась настільки високою, що дія застосованих нами антибактеріальних препаратів не призвела до повної інгібіції її росту. Високий рівень загального бактеріального забруднення проб не дозволив ізольовати з них мікоплазми. Серед типованої нами супутньої мікрофлори (*Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterococcus faecalis*, дріжджоподібні гриби) найбільшу проблему становили ентерококи, що є практично нечутливими до антибіотиків та досить інтенсивно розмножуються в рідких поживних середовищах.

Випробування схеми I (табл. 1) в порівнянні зі схемами II-III попередньої обробки проб вмісту мазків зі слизової оболонки піхви від корів (госп. № 1) при дослідженні на мікоплазмоз і застосування при цьому ТС № 1 показало, що не має суттєвої різниці при використанні даних схем для ізоляції мікоплазм. При дослідженні схеми I (табл. 2) у порівнянні зі схемою III обробки проб патологічного матеріалу від корів (госп. № 2) і застосування ТС № 4 також не спостерігали змін при ізоляції мікоплазм. Вплив низької температури одно або дворазово з наступним відтаванням патологічного матеріалу з застосуванням інгібіторів у середовищах не зменшував вміст та не сприяв повній інгібіції супутньої бактеріальної та грибової мікрофлори, але і не пригнічував розмноження мікоплазм.

Вивчення властивостей культур мікоплазм показало, що за морфологічними, тінкторіальними, культурально-біохімічними ознаками виділені культури відповідали властивостям, характерним для видів *Mycoplasma bovis*, *M. bovis genitalium*. Так, ріст культур на рідкому середовищі характеризувався незначною опалесценцією, на щільних поживних середовищах – утворенням дрібних ізольованих круглястих прозорих колоній. При мікроскопії мазків, що виготовлені з бульйонних культур та пофарбовані за Романовським-Гімза, спостерігались багаточисельні кокоподібні тільця фіолетового кольору, розташовані поодинокі чи у вигляді невеликих скупчень. Виділені мікоплазми не розкладали глюкозу й аргінін, тобто не змінювали колір індикаторів у рідких поживних середовищах. Як контроль був узятий референтний штам *M. bovis* PG 45.

Таким чином, при проведенні прижиттєвої діагностики ВРХ на мікоплазмоз слід ураховувати, що супутня мікрофлора на слизових оболонках тварин представлена стафіло- та стрептококами, ентеробактеріями, неферментуючими аеробами та дріжджоподібними грибами. Тому до складу транспортних середовищ необхідно вводити антибактеріальні та антигрибкові препарати широкого спектру дії.

Висновки.

1. За умов використання різних транспортних середовищ польові ізоляти мікоплазм були виділені від 20 до 50 % корів з патологіями репродуктивних органів.

2. Встановлено, що найбільш ефективним при проведенні досліджень проб патологічного матеріалу від ВРХ на мікоплазмоз було транспортне середовище із додаванням пеніциліну, стрептоміцину та ністатину.

3. Одно- або дворазове заморожування проби патологічного матеріалу не призводить до інгібіції супутньої мікрофлори, але й не пригнічує росту мікоплазм. Найбільш ефективною признана схема із застосуванням однодобової інкубації проби в транспортному середовищі із подальшим пересівом на діагностичні поживні середовища.

Список літератури

1. Четкина, Н.П. Диагностика и система лечебно-профилактических мероприятий при смешанных инфекциях крупного рогатого скота вирус-бактериальной этиологии [Текст] // Н.П. Четкина, М.П. Павленко, С.Н. Орлов и др. / Міжвід. темат. наук. зб.: Вет. медицина. – 2008. – № 91. – С. 494-501.
2. Вологодская, О.В. Ассоциативный уrogenитальный микоплазмоз крупного рогатого скота (диа-

гностика и лечение) / О.В. Вологодская. — Автореф. дисс...канд. вет. наук. — Омск, 2006. — 20 с. 3. Смирнова, Л.И. Выделение и дифференциация урогенитальных микоплазм от крупного рогатого скота [Текст] // Л.И. Смирнова, К.В. Племяшов, Л.В. Темникова / Ветеринария. — 2008. — № 8. — С. 9-10. 4. Коромыслов, Г.Ф. Микоплазмозы в патологии животных [Текст] / Г.Ф. Коромыслов, Я. Месарош, Л. Штипкович. — М.: ВО Агропромиздат, 1987. — 304 с. 5. Прозоровский, С.В. Медицинская микоплазмозология [Текст] / С.В. Прозоровский, И.В. Раковская, Ю.В. Вульфвич. — М.: Медицина, 1995. — 310 с. 6. Стегній, Б.Т. Діагностика мікоплазмозів птиці (методичні рекомендації) [Текст] / Б.Т. Стегній, В.В. Кіприч, О.В. Обуховська та інші. — Харків, 2008. — 29 с.

INTRAVITAL DIAGNOSIS OF THE CATTLE MYCOPLASMOSIS WITH APPLICATION OF DIFFERENT SCHEMES OF PREPARATION OF PATHOLOGICAL MATERIAL SAMPLES

Orlov S.N., Obukhovskaya O.V., Glebova K.V.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»,
Kharkov

It is proved, that the most effective at carrying out of researches of the samples of pathological material from cattle on mycoplasmosis was use of the transport medium with addition of penicillin, streptomycin and nystatin. One time or double freezing of sample of pathological material does not result in inhibition of concomitant microflora, but also does not depress growth of mycoplasma. Scheme with application of one-day incubation of sample in the transport medium with subsequent reinoculation on diagnostic mediums was considered the most effective.

УДК 619:615.9:612.015

ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ІНДИКАТОРНИХ ФЕРМЕНТІВ ПЕЧІНКИ КУРЕЙ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ФУРАДАНУ

Пащук Ю.Г.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної
і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків

Метою роботи було визначити зміни активності індикаторних ферментів печінки курей за умов одноразового перорального введення фурадану. Під впливом фурадану за умов одноразового перорального введення в дозах 2,5 та 5,0 мг/кг маси тіла в організмі курей відзначали підвищення активності індикаторних ферментів — АсАТ, АлАТ і ЛДГ в сироватці крові. У тканині печінки було встановлено пригнічення активності АсАТ, АлАТ і ЛДГ. Ці зміни були встановлені на ранніх строках інтоксикації (через чотири години, одну та три доби після введення пестициду). На сьому добу досліді змін з боку вказаних показників майже не спостерігали.

Фурадан — пестицид з групи похідних карбамінової кислоти. багатофункціональної дії. Він широко використовується в сільському господарстві як акарицид, інсектицид, нематод і фунгіцид [1].

Цей пестицид пригнічує активність холінестерази мозку, сироватки (плазми), еритроцитів та м'язів, чим і пояснюється його основна токсична дія на організм тварин, що описано в роботах багатьох учених [2, 3]. Окрім цих даних у джерелах літератури майже немає інформації щодо впливу цього пестициду на активність індикаторних ферментів печінки.

Як відомо, у свійських тварин та птиці вміст АсАТ у печінці превалює над вмістом АлАТ [4]. До того ж встановлено, що обидві амінотрансферази містяться як у цитоплазмі, так і в мітохондріях гепатоцитів, хоча і в різних співвідношеннях: АлАТ превалює в цитоплазмі, а АсАТ, навпаки, у мітохондріях [4, 5, 6]. Загальна ЛДГ представлена в клітинах печінки головним чином ізоформою — ЛДГ₅.

Метою нашої роботи було визначити зміни активності індикаторних ферментів печінки курей за умов одноразового перорального введення фурадану.

Матеріали та методи. Робота виконувалась у лабораторії токсикологічного моніторингу Центру токсикологічних досліджень Національного наукового центру «Інс-394