

ROLE OF CULVER (*COLUMBA LIVIA*) IN EPISOOTOLOGICAL RAILLIETINOSIS INVASIONS OF CHICKENS

Bogach N.V., Sokolova A.

Odessa Research Station of National Scientific Center 'Institute of
Experimental and Clinical Veterinary Medicine'

Stepanova N.A.

National Scientific Center 'Institute of Experimental and Clinical Veterinary
Medicine', Kharkiv

*Data about parasitizing of cestodae of Raillietina of echinobothrida in doves with
extensiveness 7,1 % and by intensity from 1 to 3 ecz are presented in the article.
Raillietinosis invasion in chickens of Raillietina got from doves with the help of
intermediate owners are reproduced experimentally.*

УДК 619:616.98:579-078

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ВІЗУАЛЬНОГО ТА ІНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ОБЛІКУ ТИТРАЦІЇ КОМПЛЕМЕНТУ В РЗК

Близнецов О.Г.¹

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

*У статті наведено результати візуального й інструментального обліку
титрації комплекменту в РЗК, які свідчать про перспективність застосу-
вання мікрометоду та інструментального обліку результатів серологічної
діагностики інфекційних хвороб.*

У системі контролю і забезпечення стабільного благополуччя тварин з бруцельозу провідне місце займає імунодіagnostика, зокрема, скринінгові дослідження тварин у розбенгал пробі (РБП), реакції зв'язування комплекменту (РЗК) та імуноферментному аналізі (ІФА). Найбільш специфічною серед серологічних реакцій до останнього часу, вважається РЗК [1-6]. У країнах СНД, зокрема в Україні, методика постановки РЗК передбачає макрометод. Сумарний об'єм компонентів реакції у пробірці 1000 мкл. Облік результатів досліджень проводять за ступенем виявлення гемолізу еритроцитів у пробірках з компонентами реакції [1-3]. За кордоном переважає мікрометод РЗК у полістиролових мікроплатах 96 лунок з U-образним дном. Сумарний об'єм компонентів реакції у лунці 100 мкл. Облік результатів ступеню гемолізу еритроцитів у лунках мікроплати проводять після спонтанного осадження еритроцитів або шляхом центрифугування мікроплат [4, 5]. У цій статті наведено результати порівняльних досліджень візуального та інструментального методів обліку ступеня гемолізу при титрації комплекменту з використанням відповідного програмного забезпечення на обладнанні для ІФА.

¹ Наук. керівник — Бабкін А.Ф., док. вет. наук

Матеріали та методи. РЗК ставили за макрометодом в об'ємі 1000 мкл. При титрації комплементу в гемсистемі використали 1; 2 і 3-відсоткову суспензію відмитих еритроцитів барана, гемолізін у подвоєному титрі, сухий комплемент сироватки морської свинки у розведенні 1:20, розчинник — фізіологічний розчин 0,85%-вий розчин NaCl. Активність комплементу у гемсистемі визначали у розведенні 1:20 шляхом дослідження різних доз комплементу (0,02; 0,04; 0,06 ... 0,2) за температури 37 °С упродовж 10 хвилин. Облік результатів титрації комплементу в гемсистемі проводили візуально одразу після водяної бані. Титром комплементу (одна гемолітична одиниця) у гемсистемі вважали найменше його розведення, яке спричиняло 100-відсотковий гемоліз еритроцитів, сенсibilізованих гемолізином. Для подальших досліджень з визначення специфічності й активності антигенів і антитіл в РЗК використали 3 гемолітичні одиниці, тобто, якщо мінімальний титр комплементу складав 0,1 мл, то робочий титр (3 одиниці) дорівнював 0,14 мл у розведенні 1:20 в загальній дозі з розчинником 0,2 мл.

Специфічність і активність антитіл визначали шляхом зв'язування комплементу комплексом антиген-антитіло упродовж 20 хвилин і додаткового витримування з гемсистемою 20 хвилин при 37 °С. Облік РЗК проводили візуально через одну-три години додаткового витримування штативів з пробірками при кімнатній температурі (20 °С \pm 1 °С) з метою спонтанного осадження еритроцитів. Наявність антитіл (позитивна реакція) визначали за показником затримки гемолізу еритроцитів у пробірках із сироваткою і антигеном та 100%-го гемолізу (негативна реакція) у контрольних пробірках (сироватка + розчинник):

(++++) — позитивно, затримка гемолізу еритроцитів 100%, надосадкова рідина прозора без ознак гемолізу, осад еритроцитів на дні пробірки;

(+++) — позитивно, затримка гемолізу еритроцитів 75 %, гемоліз еритроцитів 25 %;

(++) — позитивно, затримка гемолізу еритроцитів 50 %, гемоліз еритроцитів 50 %;

(+) — сумнівно, затримка гемолізу еритроцитів 25 %, гемоліз еритроцитів 75 %;

(-) — негативно, затримка гемолізу еритроцитів 0 %, гемоліз еритроцитів 100 %.

Оцінку ступеня затримки гемолізу в 2+, 3+ або 4+ вважали позитивною реакцією. Відсутність затримки гемолізу, тобто повний гемоліз, визначали як негативну реакцію. Зазначена система обліку за відсотком гемолізу є загально прийнятою.

Ми провели порівняльні дослідження макро- і мікрометоду постановки РЗК в об'ємі 100 мкл, по 20 мкл кожного компоненту (антиген, позитивна або негативна сироватки, комплемент, гемолізін, суспензія відмитих еритроцитів барана) у мікроплатах з U-образними лунками. Для обліку результатів РЗК мікрометодом застосували обладнання і програмне забезпечення для ІФА, зокрема спектрофотометр фірми Тесла з довжиною хвилі 405 проти 620 нм. Оцінку результатів РЗК проводили за оптичною густиною в одиницях екстинції без додаткового осадження еритроцитів.

Результати досліджень. Результати порівняльного візуального і інструментального обліку на спектрофотометрі титрації комплементу в гемсистемі в залежності від концентрації еритроцитів барана (1 %, 2 %, 3 %) свідчать, що титр комплементу при візуальному обліку збільшується на один порядок від 0,08 до 0,12, а при інструментальному обліку від 0,04 до 0,08 в залежності від концентрації еритроцитів (Рис. 1 і 2). Порівняльні дослідження титрації комплементу традиційним методом в об'ємі 1000 мкл за відсотком гемолізу еритроцитів і мікрометодом в об'ємі 100 мкл та обліком результатів на спектрофотометрі за оптичною густиною свідчить про співпадання кінетики гемолітичної дії комплементу залежно від дози.

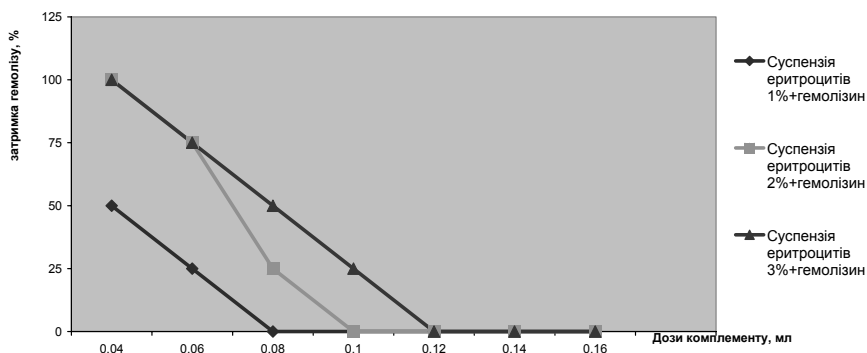


Рис. 1. Результати візуального обліку титрації комплементу в гемсистемі в залежності від концентрації еритроцитів

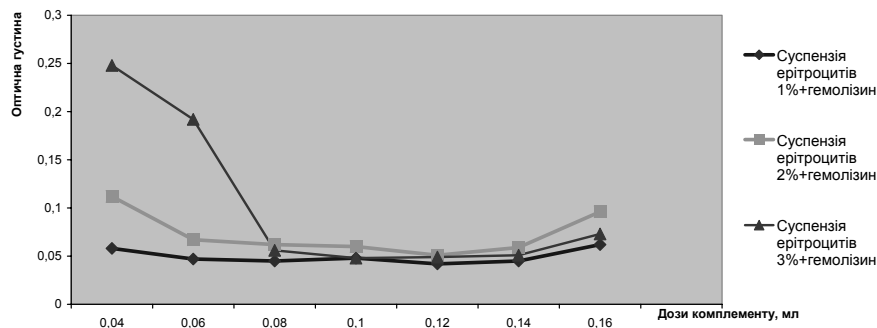


Рис. 2. Результати інструментального обліку титрації комплементу в гемсистемі в залежності від концентрації еритроцитів

Результати порівняльного візуального і інструментального обліку на спектрофотометрі титрації комплементу у баксистемі (позитивна або

негативна сироватки + бруцельозний антиген 1:75 + різні дози комплекменту, витримування впродовж 20 хвилин при 37°C і додаткове внесення гемісистеми на 20 хвилин) також свідчать про специфічність і більшу чутливість інструментального методу порівняно з візуальним. Повний гемоліз еритроцитів з негативною сироваткою і антигеном візуально спостерігався при дозі 0,1 мл комплекменту, а інструментально 0,08 відповідно (рис. 3 і 4). Позитивна сироватка візуально з бруцельозним антигеном давала затримку гемолізу (#, +++) з комплекментом у дозі від 0,1 до 0,14-0,16 і 100 % гемоліз у контрольних пробірках з розчинником при значно меншій дозі комплекменту (0,06-0,08). Позитивна сироватка з бруцельозним антигеном інструментально відповідно мала показник екстинції 0,36-0,27. У контрольних пробірках (сироватка + розчинник і антиген + розчинник), навіть з комплекментом у дозі 0,06-0,08, екстинція дорівнювалась 0,05-0,09, тобто відповідала негативному контролю.

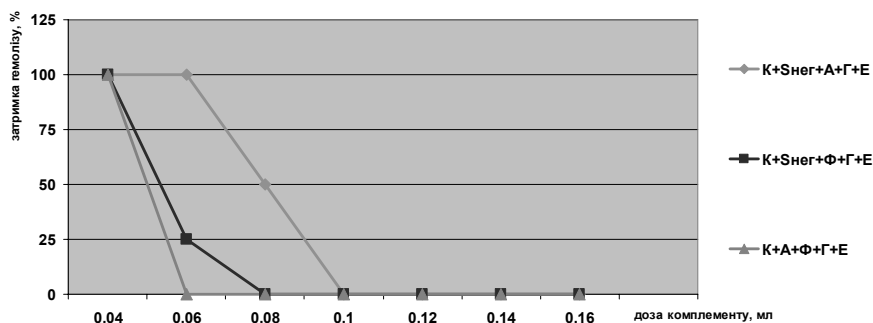


Рис. 3. Результати візуального обліку титрації комплекменту в баксистемі (негативна сироватка крові ВРХ+бруцельозний антиген)

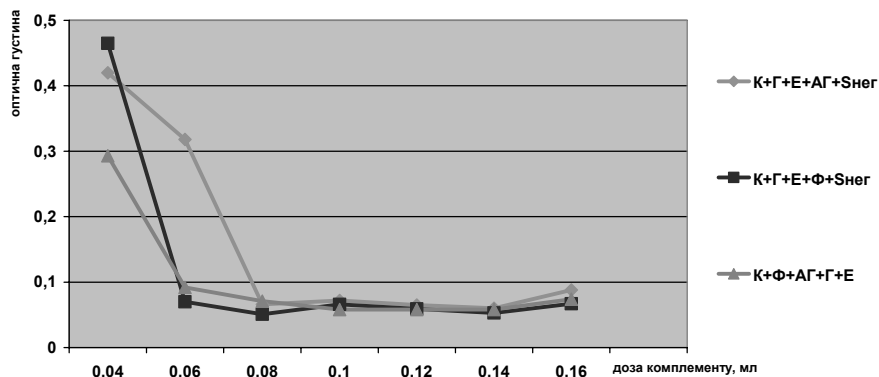


Рис. 4. Результати інструментального обліку титрації комплекменту в баксистемі (негативна сироватка крові ВРХ + бруцельозний антиген)

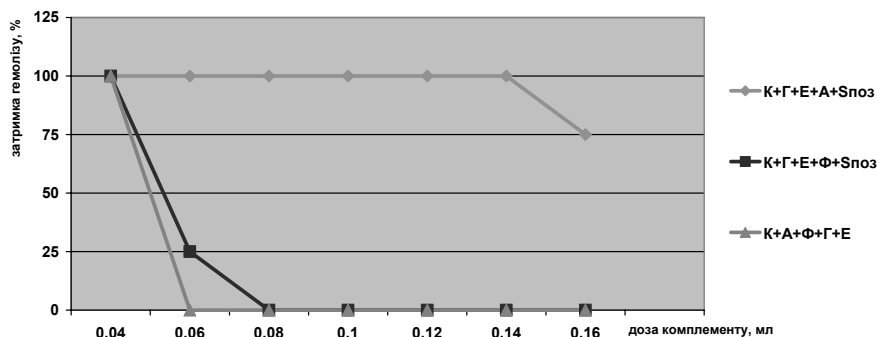


Рис. 5. Результати візуального обліку титрації комплементу в баксистемі (позитивна бруцельозна сироватка крові ВРХ + бруцельозний антиген)

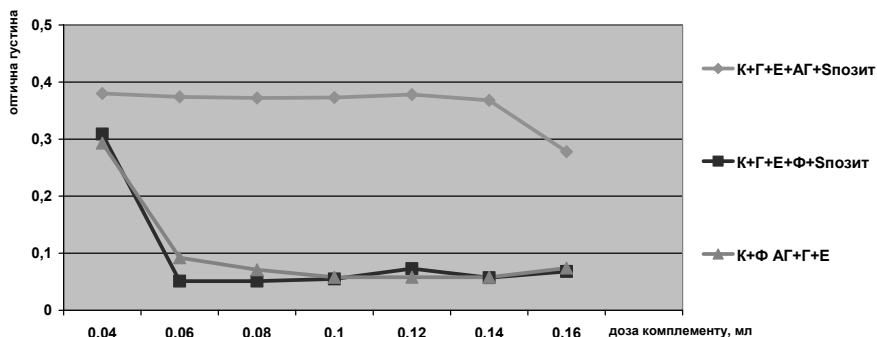


Рис. 6. Результати інструментального обліку титрації комплементу в баксистемі (позитивна сироватка крові ВРХ 1:5 бруцельозний антиген)

Висновки. Отримані результати свідчать про співпадання тенденції виявлення гемолітичної активності комплементу в гемсистемі й баксистемі при візуальному та інструментальному обліку РЗК, зокрема, про більшу чутливість мікрометоду. Інструментальний облік результатів РЗК мікрометодом рекомендується проводити на обладнанні для ІФА з використанням комп'ютерної програми Magellan.

Список літератури

1. Настанова з діагностики бруцельозу тварин, К., 1998. — 59 с.
2. Наставление по диагностике бруцеллеза животных, М., 2003. — 62 с.
3. Бруцеллез сельскохозяйственных животных. [Текст] / В.А. Бусол, А.Ф. Бабкин, П.Н. Жованик — К.: Урожай, 1991. — 176 с.
4. Chapter 3.3.1. Ovine epididymitis // OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines 2000.
5. Chapter 2.4.1 Ovine epididymitis [Text] // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). — 5th, ed. — Paris, 2004. — Vol. 1. — P 245-250.
6. Бабкін, А.Ф. Комплемент фіксує тест у діагностиці інфекційного епідидиміту баранів / А.Ф. Бабкін, О.О. Медвідь, Д.Ю. Райко // Вет. медицина: Міжвід. тематич. наук. зб. — Х., Вип. 92. — С 38-42

COMPARATIVE ESTIMATION OF VISUAL AND INSTRUMENTAL ACCOUNTING OF THE COMPLEMENT TITRATION IN CFT

Bliznetsov A.G.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv

Results of visual and instrumental accounting of the complement titration in CFT that testify about availability of using micromethod and instrumental accounting of results of infectious diseases serological diagnostics are presented in the article.

УДК 619:615.7:614.31:637.12

ВЕТЕРИНАРНО–САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА МОЛОКА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТА «ЛАКТОСАН»

Бородич Л.М.¹

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

В статье дана ветеринарно-санитарная оценка молока коров после применения пробиотического противомаститного препарата «Лактосан».

Основная продукция молочного скотоводства — молоко. Высокая пищевая ценность молока и оптимально сбалансированное соотношение питательных веществ в легкоусвояемой форме делает его незаменимым в рационе детей и лиц, нуждающихся в диетическом питании.

Однако при мастите у коров резко снижается качество молока. По данным Международной молочной федерации, маститом ежегодно болеет 25–50 % коров. С интенсификацией молочной отрасли проблема заболеваемости коров маститом обостряется [1]. Каждая корова, переболевшая маститом, не дает 10–30 % молока, содержание в нём жира, белка и его биологическая ценность снижаются. Из-за болезней молочной железы ежегодно выбраковывают более 10 % высокопродуктивных животных. Ущерб от мастита складывается также из роста заболеваемости новорожденных телят, затрат на лечение и профилактику, снижения сортности молока [2].

Для лечения и профилактики мастита широко применяют антибиотики, сульфаниламиды, нитрофураны и другие химические вещества, что нередко приводит к образованию лекарственно устойчивых штаммов микроорганизмов. Антибиотики подавляют факторы местной резистентности молочной железы и длительно выделяются с молоком. Попадая с пищей в организм человека, эти вещества способны вызывать дисбактериозы, аллергические реакции, нарушение обмена веществ [5].

В этой связи несомненный интерес представляют пробиотики. Они обладают широкой гаммой позитивных фармакологических эффектов, экологичнее большинства других лекарственных средств и не снижают качество продукции.

¹ Научный руководитель — Богущ А.А., доктор ветеринарных наук, профессор