

Як видно з таблиці, дійні корови в період захисту від гнусу мали більш високу середньодобову продуктивність порівняно з коровами контрольної групи. Середньодобовий надій молока в дослідній групі становив $12,02 \pm 0,11$ л, а в контрольній – $10,87 \pm 0,04$ л. Середньодобове збільшення молока у дослідній групі порівняно з контрольною становило $1,15 \pm 0,07$ л.

За весь період спостережень (25 днів) збільшення у дослідній групі порівняно з контролем становило в середньому 28,75 л на тварину. З 1 по 11-й день спостережень обробку проводили щоденно через кожні 24 години, а починаючи з 12 дня – з інтервалом 36-48 годин. Незважаючи на зменшення кратності обробок, в дослідній групі помітне суттєве зростання надою. Так, протягом перших 2 тижнів обробок середнє збільшення надою становило 0,95 л, а протягом другої половини періоду спостережень – 1,34 л (зростання на 41 %). При цьому середній надій у контрольній групі збільшився лише на 3,6 %.

Отже, за 25 днів від кожної корови, яка підлягала захисту, було додатково отримано молока на суму 97,75 гривень (при закупівельній ціні молока 3,4 грн. за 1 літр). Вартість «Ектосану» в кількості 0,018 л (при ціні 228,6 грн. за 1 л) для обробки 1 корови за період досліду становила 4,11 гривень на 1 тварину. Економічний ефект «Ектосану» на великій рогатій худобі у рекомендованих режимах застосування становить 13,6 грн. на 1 гривню затрат.

Висновок. Запропонований інсектицидний препарат «Ектосан», не дивлячись на його високу вартість, при обробках великої рогатої худоби проти кровосисних двокрилих комах виявився економічно рентабельним. Економічний ефект на у рекомендованих режимах застосування становить 13,6 грн. на 1 гривню затрат.

Перспективи подальших досліджень. Планується вивчення економічної ефективності нового інсектициду з вираженим репелентним ефектом «Ектосан плюс».

Список літератури

1. Андреев, К.П. Ветеринарная энтомология и дезинсекция. – М.: Колос, 1966. – 328 с.
2. Березовський, А.В., Шевченко, А.М., Катюха, С.М. Визначення ефективності „ектосану™” для захисту великої рогатої худоби від гнусу в умовах літньо-табінного утримання // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків: ІЕКВМ, 2008. – №91. – С. 47-50.
3. Методические рекомендации по изучению эффективности репеллентов и инсектицидов в ветеринарии / ВАСХНИЛ, отделение ветеринарии. – М., 1982. – 13 с.
4. Основні інсекто-акарацидні препарати у ветеринарній медицині / М. Косенко, І.Юськів, Д. Гуфрій та ін. // Ветеринарна медицина України. – 2000. – №4. – С. 31-33.
5. Павлов, С.Д., Павлова, Р.П. Препараты для защиты крупного рогатого скота от гнуса и зоофильных мух на пастбищах // Ветеринария. – 1999. – №3. – С. 30-33.
6. Потоцький М.К. Блутанг жуйних // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 4. – С. 23-26.
7. Пономарев, А.А., Василевич, Ф.И. Кровососущие насекомые как фактор передачи инфекционных и инвазионных болезней животных // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы Сиб. Междунар. вет. конгр. / Новосибир. гос. аграр. ун-т. – Новосибирск, 2005. – С. 184-185.
8. Cupp, M.S., Cupp, E.W., Ochoa-A, J.O., Moulton, S.V. Salivary apyrase in New World black-flies (*Diptera: Simuliidae*) and its relationship to onchocerciasis vector status // Med. and Vet. Entomol. – 1995. – Vol.9, N3. – P. 325-330.

THE CHECKING TO NUMBER OF BLOODSUCKING INSECTA: DIPTERA AS ACTION IN SYSTEM OF BIOSAFETY AT RECEIVE THE PRODUCTS OF LIVE-STOCK

Katyukha S.N., Zhigalyuk S.V.

Institute of Epizootology of NAASU, Rivne

The studying influence on organism of animal the bloodsucking Insecta: Diptera, the bad importance of ectoparasites will revealed, which inflict the significant economic damage. The processing of animals systematic of defensive by insecticides of ecological safe «Ektosan» for the reason preventions of the reduction a milk producing ability of the cattle because of mass hold up the blood-sucking insects are suggested. The expenses are dipped repeatedly on actions execution of data that must promote increasing profitability of stockbreeding and receptions by qualitative product.

УДК 579.887.9:616.37-078

ЛАБОРАТОРНО-КЛІНІЧНЕ ВИПРОБУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ РНІФ-ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ АНАПЛАЗМНОГО АНТИГЕНУ

Килипко Л.В.,

Харківська обласна СЕС МОЗ України, лабораторія відділу особливо небезпечних інфекцій,

Тимченко О.М.

*ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України»,
лабораторія нових та маловивчених інфекційних захворювань (ЛНМІЗ), м. Харків*

Анаплазмозна (ерліхіозна) інфекція (AI, EI відповідно) об'єднані в одну групу трансмісивних інфекційних захворювань людей та ссавців, що визиваються бактеріями родів *Anaplasma* і *Ehrlichia*, відповідно, характеризуються розвитком синдрому загальної інфекційної інтоксикації та специфічним враженням білих клітин крові [1, 2].

В Україні до теперішнього часу тест-системи для імунологічної діагностики AI (EI) не виготовляються. Перші серологічно верифіковані випадки AI на території України здійснені співробітниками лабораторії трансмісивних вірусних інфекцій Львівського НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України з використанням препаратів для твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) з клітинами антигену *A. Phagocytophilum*.

Метою роботи є розробка експериментального зразку вітчизняної РНІФ-тест-системи для серодіагностики AI шляхом виявлення в зразках клінічного матеріалу (кров, пунктат лімфовузлів, селезінки, кісткового мозку, секційний матеріал та ін.) антигенів збудника (клітин і мікроколоній бактерій роду *Anaplasma*).

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження були модельні зразки та зразки клінічного матеріалу (кров і сироватка крові) від клінічно здорових людей (донорів крові) і пацієнтів із укусом кліща в анамнезі та клінічною картиною захворювання, що не виключає можливість перебігу AI. Основним діагностичним імунобіологічним компонентом, що входить до складу розробленої РНІФ-тест-системи є поліклональні протианаплазмозні імуноглобуліни кролячі (протиAnaplgKp).

Розділ 7. Паразитологія

Таблиця 1 – Специфікація діагностичного препарату протиАнапІгКр

Зовнішній вигляд	Помірно-каламутна, напівпрозора, однорідна рідина із незначною опалесценцією та сіро-білим відтінком, яка після струшування не містить помітних неозброєним оком включень і осаду.
Загальна характеристика	Колоїдний розчин у фосфатно-сольовому буфері (рН=7,0) γ -глобулінової фракції протианаплазмозних поліклональних сироваток крові кроликів, який містить в якості консерванту 0,05 % азиду натрію. Концентрація білку в препараті протиАнапІгКр становить $(2,213 \pm 0,077)$ мг/мл, робочий титр 1:8.
Метод отримання	ПротиАнапІгКр виготовлено із сироваток крові кроликів, імунізованих повним корпускулярним антигеном штаму <i>A. marginale</i> ВІЭВ1 за технологією, яка включає етапи: виготовлення вакцини, імунізацію лабораторних тварин і отримання протианаплазмозних поліклональних сироваток, виділення γ -глобулінової фракції (шляхом подвійного осадження сульфатом амонію з рН=6,8-7,0) при 50 % насиченості суміші та послідовного їх очищення мембранним діалізом), видалення неспецифічних антитіл (методом адсорбції корпускулярним антигеном <i>F. tularensis</i>), стандартизацію рівня активності, хімічну стабілізацію, фасування і маркування препарату.
Основні біологічні властивості	ПротиАнапІгКр характеризуються високим рівнем специфічності, здатні вступати в імунологічні реакції із антигенами (клітинами і мікроколоніями) анаплазм, адсорбуючись на їх поверхні, що забезпечує отримання чіткої люмінесцентно-мікроскопічної картини для оцінки диференційних характеристик при відтворенні РНІФ.

В експерименті на модельних зразках, зразках клінічного та іншого біологічного матеріалу проведено лабораторно-клінічне випробування діагностичного препарату протиАнапІгКр, що дозволило встановити рівні чутливості, специфічності та відтворюваності результатів досліджень з використанням запропонованого способу виявлення антигену збудника анаплазмозу в РНІФ.

Для створення модельних зразків було використано 9 типів гомологічних і гетерологічних (по відношенню до протиАнапІгКр) корпускулярних антигенів філогенетичного найбільш близьких до анаплазм видів бактерій та мікроорганізмів інших таксономічних груп Proteobacteria, що є збудниками кліщових бактеріальних інфекцій: α -групи – *Rickettsia prowazekii*, *R. sibirica*, *Brucella abortus*, *Bartonella henselae*, *B. quintan*; β -групи – *Borrelia garinii*; γ -групи – *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*. Модельні зразки являли собою суспензії з визначеною концентрацією корпускулярних антигенів, виготовлені шляхом дозованої контамінації комерційними діагностикумами різного виробництва фізіологічного розчину (з рН=7,0) та клінічного матеріалу (кров людей), який за своїм походженням не містив бактерій роду *Anaplasma*. В усіх експериментах із використанням модельних зразків, які містили гетерологічні ПК Анг результати виявлення АнгАІ в РНІФ були негативними. Навпроти, позитивні результати були зафіксовані при тестуванні модельних зразків, контамінованих гомологічним АнгАІ за умови, що концентрація корпускул АнгАІ в модельних суспензіях із фізіологічним розчином становить $(2,6 \pm 1,0) \times 10^4$ /мл, а в модельних суспензіях з кров'ю людей – $(8,5 \pm 3,3) \times 10^5$ /мл.

При випробуванні діагностичного препарату протиАнапІгКр було протестовано 81 зразок клінічного та іншого біологічного матеріалу, походження та результати дослідження яких наведено в таблиці 2.

Таблиця 2 – Результати дослідження зразків клінічного та іншого біологічного матеріалу на наявність АнгАІ в РНІФ при випробуванні діагностичного препарату протиАнапІгКр

Походження досліджених зразків	Кількість досліджених зразків	Позитивний результат виявлення АнгАІ в РНІФ, абс.ч., (%)
Кров і осад центрифугату сироватки осіб укушених кліщем	22	1 (4,5)
Препарати лінії клітин HL-60, інфікованих: зразками крові (осадою центрифугату сироваток) осіб, укушених кліщем та гомогенатами кліщів	27	5 (18,5)
Кров клінічно здорових людей	25	0
Препарати інтактних клітин лінії HL-60	7	0
Всього	81	6 (7,4)

Застосування отриманого препарату протиАнапІгКр суттєво підвищує рівень співпадання результатів досліджень щодо виявлення антигену збудника ГАЛ запропонованим способом РНІФ і методом ПЛР. При тестуванні зразків крові і осаду центрифугату сироваток осіб, укушених кліщем, не було зафіксовано випадків хибно позитивних результатів РНІФ, а коефіцієнт кореляції (r_{Φ}) результатів, отриманими за допомогою обох реакцій, становив 1,0. При дослідженні РНІФ і ПЛР препаратів лінії клітин HL-60, інфікованих зразками крові (центрифугатом сироваток) осіб, укушених кліщем, та гомогенатами кліщів r_{Φ} результатів склав 0,93. Тобто, лише в одному випадку позитивний результат дослідження, отриманий способом РНІФ, не співпадав із результатом ПЛР-детекції (останній був негативним). У цілому рівень відтворюваності як позитивних, так і негативних результатів виявлення АнгАІ в РНІФ у модельних, клінічних та зразках іншого біологічного матеріалу при використанні отриманого препарату протиАнапІгКр становив $(94,4 \pm 3,4)$ %. В цілому результати лабораторно-клінічного випробування отриманого препарату протиАнапІгКр для виявлення АнгАІ в РНІФ (таблиця 3) близькі до результатів досліджень зарубіжних авторів [3, 4, 5], які були отримані останніми із використанням інших діагностичних імунобіологічних препаратів (тест-систем) аналогічного призначення.

Крім того, застосування отриманого препарату протиАнапІгКр з метою виявлення та ідентифікації АнгАІ (клітин і мікроколоній збудника ГАЛ) в РНІФ при дослідженні модельних, клінічних та зразків іншого біологічного матеріалу дозволило отримати чіткі візуальні диференційні характеристики: характер люмінесценції (колір, ступінь яскравості, морфологічні особливості мікроколоній (морул) і клітин збудника АІ, їх присутність і подібність у декількох полях зору (фігура).

Таблиця 3 – Узагальнені результати випробування отриманого препарату проти AnaplgKp для виявлення АнГІ в РНІФ при дослідженні модельних, клінічних та зразків іншого біологічного матеріалу

Вивчені показники	Рівень узагальнених показників дослідження модельних, клінічних та зразків іншого біологічного матеріалу для виявлення АнГІ в РНІФ при використанні отриманого препарату проти AnaplgKp, ($m \pm d$)
Межа чутливості	у модельній системі: АнГІ + ФСБ (рН=7,0) $(2,6 \pm 1,0) \times 10^4$ корпускул антигену/мл; у модельній системі: АнГІ + кров людини $(8,5 \pm 3,3) \times 10^5$ корпускул антигену/мл
Специфічність	$(93 \pm 5) \%$
Відтворюваність	$(93 \pm 5) \%$

Висновки. Таким чином, за результатами проведених досліджень розроблено спосіб діагностики анаплазмозу шляхом виявлення антигену збудника в РНІФ, для відтворення якої запропоновано використовувати в якості Ант1 поліклональні протианплазмозні імуноглобуліни кролячі, отримані при імунізації тварин повним корпускулярним антигеном штаму *A. marginale* ВИЭВ1.

Список літератури

1. Васильева, И. С. Новые болезни, передаваемые иксодовыми клещами (Ixodidae). Эрлихиозы и анаплазмозы человека [Электронный ресурс] / И. С. Васильева // <http://lib.2005.rat-info.ru/files/>. 2. Ильинских, Е. Н. Изучение субпопуляционной и функциональной гетерогенности мононуклеарных клеток периферической крови у больных иксодовым клещевым боррелиозом и гранулоцитарным эрлихиозом человека [Текст] / Е. Н. Ильинских, Н. Н. Ильинских // Медицина в Кузбассе; Матер. Межрегион. науч.-практич. конфер. с междунар. участием. – Кемерово: – ИД «Медицина и просвещение» – 2008. – № 5 (спецвып.). – 190 с. – С. 77-78. – ISSN 1819-0901. 3. Dumler, J. S. Anaplasma and Ehrlichia infection [Text] / J. S. Dumler // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2005. – Vol. 1063. – P. 361-373. 4. Comer, J. A. Serologic testing for human granulocytic ehrlichiosis at a National Referral Center [Text] / J. A. Comer, W. L. Nicholson, J. G. Olson, J. E. Childs // J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol. 37, № 3. – P. 558-564. 5. Walls, J. E. Inter- and intralaboratory comparison of Ehrlichia equi and human granulocytic ehrlichiosis (HGE) agents strains for serodiagnosis of HGE by the immunofluorescent-antibody test [Text] / J. E. Walls, M. Aguero-Rosenfeld, J. S. Bakken [et al] // J. Clin. Microbiol. – 1999. – Vol. 37, № 9. – P. 2968-2973.

LABORATORY-CLINICAL TEST OF THE EXPERIMENTAL RIF-TEST-SYSTEM FOR DETECTION OF ANAPLASMOSIS ANTIGEN

Kilipko L.V.

Kharkiv Regional Sanitary Epidemiological Station MPH of Ukraine

Timchenko O.M.

SE „Institute of Microbiology and Immunology named after I.I. Mechnikov, AMS of Ukraine”, Kharkiv

Experimental sample of domestic RIF-test-system is developed for serum diagnostics of anaplasmosis infections by detection in samples of a clinical material (blood, punctate lymph nodes, spleen, marrow, sectional material and other) of antigens of agent (cells and microcolonies bacteria of genera Anaplasma).

УДК 636.09:579.62:579.88:001.891:577.213:636.8:636.7(477-25)

РОЗРОБКА ТЕСТ-СИСТЕМИ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ *TOXOPLASMA GONDII* МЕТОДОМ ПЛР І МОНІТОРИНГ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ЗБУДНИКА ТОКСОПЛАЗМОЗУ СЕРЕД ДОМАШНІХ КІШОК І СОБАК У М. КИЄВІ

Кудрявченко О.П.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м.Київ, Україна

Важливими завданнями ветеринарної науки і практики є вирішення проблем діагностики й профілактики хвороб тварин, захист їх від зараження особливо небезпечними збудниками захворювань різної етіології. Паразитарні хвороби тварин останнім часом мають тенденцію до поширення, тому розроблення нових методів діагностики та вдосконалення лікувально – профілактичних заходів – одне з найактуальніших завдань паразитологів на сучасному етапі.

Одна з актуальних паразитарних проблем в Україні – токсоплазмоз, який зумовлює необхідність проведення робіт з удосконалення існуючих та розроблення нових, більш досконалих методів його діагностики та профілактики [1, 10]. В останні роки прогрес в діагностиці пов'язують із розвитком молекулярно-генетичних технологій на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [6, 7]. Перевагами цього методу є швидкість (для отримання відповіді достатньо декількох годин), висока чутливість, специфічність та універсальність [4].

Дослідження в цьому напрямку, на наш погляд, стануть основою для розробки та впровадження у ветеринарну практику нових ефективних методів діагностики і контролю паразитарних хвороб.

Токсоплазмоз – паразитарне захворювання, що характеризується переважно латентним або хронічним протіканням, ураженням нервової системи, органів ретикулоендотеліальної системи, м'язів, міокарду і очей.

Збудник токсоплазмозу – *Toxoplasma gondii* належить до типу найпростіших *Protozoa*. Значну роль у розповсюдженні збудника відіграють коти, собаки і хутрові звірі. Але найбільш інтенсивно в навколишнє середовище токсоплазми виділяють коти, в організмі яких проходить статевий цикл розвитку збудника, який виділяється з фекаліями у вигляді ооцист, які мають високу стійкість до зовнішнього впливу. Також збудник може виділятися з навколоплідною рідиною, плацентою та піхвовими виділеннями, абортіваними і мертворождуваними плодами [8].

Розвиток нових методів лабораторної діагностики (зокрема, ПЛР) дозволяє оцінити поширеність інфекції *T. gondii* серед домашніх вихованців (кішок і собак), що представляють потенційну небезпеку для зараження людини [4].

У людей зараження відбувається аліментарно при попаданні в кишечник цист та споживанні сирого м'ясного фаршу або недостатньо термічно обробленого м'яса, особливо свиней, кролів, овець. Інший шлях зараження здійснюється при попаданні