

Розділ 8. Патологія тварин, клінічна біохімія, якість і безпека тваринницької продукції

мікроорганізмів та їх довгострокового зберігання в колекціях. Роботи співробітників Музею патогенних для людини мікроорганізмів. Вип.3., – 2004. – С. 80-84. 5. Урогенитальные хламидиозы/ Шаткин А.А., Мавров И.И. – Киев: Здоров'я, – 1983. – 200 с. 6. Roblin, P. M., Dumornay, W., Hammerschlag, M. Use of Hep-2 cells for improved isolation and passage of Chlamydia pneumoniae.// Clin. Microbiol. – 1992. – № 30. – P. 1968-1971. 7. Herbrink, P., Zuyderwijn-Zwinkels, M., Wagenwoort, J. Comparison of different culture media for isolation of Chlamydia trachomatis by cell culture on HeLa cells //Eur.J.Clin. Microbiol Infect Dis. – 1991. – № 10. – P. 655-659. 8. «Спосіб пасивування клітинної культури L 929». Пат. 25661 Україна G01N33/00 Мавров І. І., Джораєва С. К., Кутова В. В., Гончаренко В. В., Щоголева О.В. № и200705527; заявл. 21.05.2007 р.; опубл. 10.08.2007 р. Бюл.№ 12. 9. Black, C. M. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections // Clin, microbiol. Rev. – 1997. – Vol. 10. –№1. – P. 160-184. 10. Кутовая, В. В., Щоголева, О. В., Пустовойтова, Л. М., Гончаренко, В. В. Некоторые особенности использования L-цистеина для стимуляции размножения хламидий в культуре клеток // Дерматология та венерология. – 2001. – №1 (11). – С. 33-35.

THE IMPROVEMENT OF METHODOLOGICAL TECHNIQUES FOR ISOLATION OF CHLAMYDIOSIS AGENTS

Volkov T.O, Dzhorayeva S.K., Solonina N.L., Kuchma I.Yu., Pilyugin S.V., Volyans'ka N.P., Moyseyenko T.M., Tanasov S.V., Martirosyan I.O.

SE «Institute of microbiology and immunology AMS of Ukraine named after I.I. Mechnikov», Kharkiv

SE «Institute of dermatology and venerology AMS of Ukraine», Kharkiv

The methodological techniques for the primary diagnostic isolation of the agent and its biomass accumulation in cell culture L929, Hep-2, McCoy and developing chicken embryo is described in the article.

УДК 619:616.36-002-07:636.2

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБОВ ДИАГНОСТИКИ ГЕПАТОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Голубь А.А.

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

Патологические процессы, связанные с поражением печени, довольно широко распространены среди сельскохозяйственных животных. По данным литературных источников [3, 6, 11] и собственных исследований [4] патология печени диагностируется у 20-90 % исследованных животных. Массовое клиническое проявление гепатоза и гепатита у крупного рогатого скота наблюдается лишь на фоне погрешностей кормления. Но по данным лабораторных исследований ряда учёных следует отметить, что более чем у 50 % животных имелись симптомы снижения функциональной способности органа [1]. Данная проблема усугубляется также гипомикроэлементозами, так как Республика Беларусь находится в биогеохимической зоне, где отмечается недостаток ряда микроэлементов (цинка, кобальта, меди и др.) [5].

Актуальность. Диагностика дистрофических и воспалительных поражений печени представляет значительные затруднения [9]. Существующие на практике методы исследования печени не всегда дают объективную информацию о характере заболевания и стадии патологического процесса. Поэтому необходимо проведение комплексных исследований для установления диагноза. Возможности клинического метода исследований ограничены, т.к. можно получить ориентировочную информацию о топографии и состоянии органа, но и не у всех животных [2]. Биохимические исследования последних лет позволили выявить избирательные изменения ферментной активности, которая при поражении тех или иных органов и тканей (в т.ч. и печени) резко возрастает, являясь показателем степени и глубины повреждения. Вместе с этим, клинико-биохимические показатели, характеризующие состояние печени у крупного рогатого скота изучены мало [10, 12]. Известно, что при поражении печени нарушается целый ряд биохимических процессов, в том числе изменяется обмен микроэлементов, и в частности цинка, который обладает гепатопротекторными свойствами [7, 8].

Целью настоящей работы являлась разработка нового способа диагностики гепатозов крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Исследования проводились в условиях скотоводческих хозяйств Республики Беларусь. В опытах использовано 984 бычка, в возрасте 7-8 месяцев, живой массой 250 кг. Клиническое исследование проводили по общепринятой схеме. Лабораторные исследования проводились в НИИПВМиБ УО ВГАВМ. Из биохимических показателей определяли общий белок, альбумины, триглицериды, холестерол, глюкозу, общий билирубин, аланинаминотрансферазу (АЛТ), аспартатаминотрансферазу (АСТ), гаммаглутамилтрансферазу (ГГТ), сорбитолдегидрогеназу (СДГ), глутамилдегидрогеназу (ГлДГ) и цинк. Депарафинированные срезы печени окрашивали гематоксилином, эозином и суданом III. Полученный цифровой материал обработан статистическими методами с применением дисперсионного анализа по методу ANOVA/MANOVA и критерия достоверности Манна-Уитни (U).

Для определения новых критериев поражения печёночной ткани нами был проведён комплекс исследований, включающий изучение зависимости определённых показателей от концентрации цинка в крови, а также математическая подборка нового критерия, характеризующего поражение печени.

На первом этапе исследований, используя дисперсионный анализ по методу ANOVA/MANOVA, проводили изучение зависимости различных биохимических показателей крови всех исследуемых животных под влиянием изменения концентрации в крови цинка.

Обозначив ряд показателей, имеющих зависимость от концентрации цинка, для дальнейших расчётов нового критерия диагностики мы оценивали достоверность различий между двумя выборками по уровню какого-либо признака, используя критерий достоверности Манна-Уитни (U). Для этого, учитывая клинический и биохимический статус, опытные животные были разделены на две группы: животные, имеющие неспецифические признаки гепатозов (группа 1) и условно здоровые животные (группа 2).

На следующем этапе был проведён математический подбор нового коэффициента с применением ранее выявленных определённых биохимических показателей, достоверно различных между двумя группами. Затем используя критерий достоверности Манна-Уитни был выбран наиболее достоверный коэффициент характеризующий степень поражения печёночной ткани. Подтверждение полученных результатов были получены посредством проведения морфологических исследований печени подопытных животных.

Результаты исследований. Используя дисперсионный анализ по методу ANOVA/MANOVA определили ряд показателей, имеющих достоверную зависимость от изменения концентрации цинка в крови. Наиболее достоверными были зависимости АЛТ, АСТ и ГГТ. При увеличении концентрации цинка уровень активности АЛТ вначале несколько возрастает, а затем достоверно снижается ($F=4,43$; $p\leq 0,007$). При анализе зависимости активности АСТ и ГГТ от концентрации в крови цинка отмечается достоверное снижение активности ферментов при увеличении концентрации цинка. Причём наиболее резкий спад активности ферментов наблюдался при достижении концентрации цинка в крови до 3,28 мг/л.

Для дальнейших расчётов нового критерия диагностики, мы используя критерий Манна-Уитни (U) оценивали достоверность

различий между двумя выборками по уровню определённых биохимических показателей. Для этого, учитывая клинический и биохимический статус, подопытные животные были разделены на две группы:

– у животных имеющих неспецифические признаки гепатозов (группа 1), отмечалось угнетение, волосяной покров матовый, взъерошен, эластичность кожи понижена, температура тела в пределах нормативных значений, цвет слизистых не изменён, показатели АЛТ, АСТ, ГГТ и цинка находятся вне значений, характерных для здоровых животных.

– условно здоровые животные (группа 2). У бычков 2-ой группы клинический статус не изменён, показатели АЛТ, ГГТ и цинка находятся в рамках нормативных значений.

Исходя из расчётов, выявили достоверные различия между двумя группами животных по уровню активности АЛТ, АСТ, ГГТ, СДГ, ГлДГ и концентрации цинка. При этом в 1-ой группе наблюдалась повышенная активность данных гепатоспецифических ферментов, что свидетельствует о поражении клеток печени.

Вышеизложенное, позволило предположить, что для диагностики гепатоза, протекающей в субклинической форме, можно использовать коэффициенты зависимости показателей, достоверно изменяющихся при данной патологии.

Так, были проанализированы следующие коэффициенты: $(\text{АЛТ}+\text{ГГТ})/\text{цинк}$; $((\text{АЛТ}+\text{АСТ})/\text{ГГТ})/\text{цинк}$; $\text{цинк}\times(\text{АЛТ}/\text{АСТ})$; $\text{цинк}\times(\text{СДГ}/\text{ГлДГ})$; $\text{цинк}\times((\text{АЛТ}+\text{ГГТ})/\text{АСТ})$; $\text{цинк}/(\text{ГГТ}/\text{АЛТ})$; $\text{цинк}/((\text{АЛТ}+\text{ГГТ})/\text{АСТ})$. При этом наиболее информативным оказался коэффициент $(\text{АЛТ}+\text{ГГТ})/\text{цинк}$.

Среди животных первой группы он колебался в пределах 20,08 – 28,48, а у животных второй опытной группы – 12,45-20,88 ($U=1$, $p=0,01$).

Таким образом, клинические и лабораторные методы диагностики имеют определенный процент достоверности и служат лишь одной из ступеней в сложном процессе клинического анализа на пути установления диагноза. Для оценки тяжести поражения печени и установления окончательного морфологического диагноза необходимо гистологическое исследование печени. Поэтому для подтверждения полученных результатов исследований были проведены морфологические исследования печени подопытных животных.

При микроскопическом исследовании гистосрезов печени животных 1-ой группы была выявлена характерная для жирового гепатоза и белковой дистрофии печени гистологическая картина: печеночные клетки атрофичные, граница нечетко выражена, в цитоплазме некоторых клеток обнаруживаются мелкие и крупные жировые включения, обнаружены небольшие группы клеток с кариопикнозом. При гистологическом исследовании печени животных второй группы отмечалось сохранение нормального балочного строения печени с мноморфными гепатоцитами без явлений дистрофии, ядра печеночных клеток без видимых изменений.

Таким образом, данные гистологического исследования печени животных подтверждают правильность расчётов коэффициента для диагностики гепатозов крупного рогатого скота. Это подтверждается характерной клинической картиной, достоверной разницей по биохимическим показателям между группами, а так же морфологической картиной, которая характерна для гепатозов.

Выводы. Установлено, что коэффициент $(\text{АЛТ}+\text{ГГТ})/\text{цинк}$ является информативным в выявлении изменений функционального состояния печени. Если указанный коэффициент превышает значение 20,88, имеет место повреждение плазматической мембраны и нарушения цитоскелета гепатоцитов, что сопровождается нарушениями их структуры с образованием разрывов в мембране и может непосредственно вести к гибели клетки, и как следствие – возникновение гепатоза.

Перспективы дальнейших исследований. Считаем перспективным дальнейшее усовершенствование или разработку новых функциональных проб, основанных на взаимосвязи морфологических изменений и нарушений обмена микроэлементов, которые могут положительно решить отдельные вопросы диагностики и профилактики заболеваний печени у животных.

Список литературы

1. Абрамов, С.С. Нозологический профиль внутренних болезней высокопродуктивных коров в хозяйствах с круглогодичным стойловым содержанием / С.С. Абрамов, А.П. Курдеко, А.А. Мацинович // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы: сборник научных трудов / Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". - Гродно, 2006. - Т. 3: Ветеринария. - С.241-244.
2. Байматов, В.Н. Морфофункциональная диагностика заболеваний печени у животных / В.Н. Байматов // Современные вопросы ветеринарной медицины и биологии. - Уфа, 2000. - С. 23-25.
3. Влізло, В.В. Жировий гепатоз у високопродуктивних корів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спец. 16.00.01. «Діагностика і терапія тварин» / В.В. Влізло – К., 1998. – 34 с.
4. Голубь, А.А. Болезни печени у крупного рогатого скота на откорме / А.А. Голубь // Учёные записки ВГАВМ. – 2008. – Т.44. – В.2. – Ч.2. – С. 63-68.
5. Кучинский, М.П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М.П. Кучинский. – Минск: Бизнесофсет, 2007. – 372 с.
6. Левченко, В.І. Етіологія, патогенез та діагностика внутрішніх хвороб у високопродуктивних корів / В.І. Левченко, В.В. Сахнюк // Вісник аграрної науки – 2001 – № 10 – С. 28-33.
7. Некоторые аспекты нарушения минерального обмена организма человека при вирусных гепатитах различного генеза / А.И. Лазарев [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика – 2007 – №2 – С. 45-47.
8. Применение лейцина и цинка сульфата для коррекции нарушений метаболизма, вызванных парацетамолом / В.М. Шейбак и [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007 – №3 – С. 40-42.
9. Сенько, А.В. Диагностика дистрофических поражений печени у свиней / А.В. Сенько // Ученые записки: [сборник научных трудов]: научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины; Ред. А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ – 2000 – Т.36, ч.2 – С.123-126.
10. Соболева, Ю.Г. Клинико-биохимическое значение гепатозависимых ферментов / Ю.Г. Соболева // Ученые записки: Учреждение образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» – Витебск 2003 – Т.39 ч.2 – С. 97-100.
11. Холод, В.М. Клиническая биохимия: учеб. пособие. В 2-х частях / В.М. Холод, А.П. Курдеко – Витебск: УО ВГАВМ – 2005 – Ч.1 – 188 с.
12. Холод, В.М. Рекомендации по использованию в диагностике патологии печени гепатоспецифического метаболического профиля сыворотки крови крупного рогатого скота / В.М. Холод, Ю.Г. Соболева. – Витебск: УО ВГАВМ. – 2008 – 31 с.

IMPROVING OF METHODS OF DIAGNOSIS OF CATTLE HEPATOSIS

Golub A.A.

State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk

The article deals with the development of new diagnostic criteria for destruction of liver tissue. Complex of clinical, biochemical, histological and biometric studies allowed establishing the diagnostically informative criteria for hepatitis of bulls - $(\text{ALT} + \text{GGT}) / \text{zinc}$. If the value of this ratio is greater than the value of 20,88, there is damage to the plasma membrane and the violation of the cytoskeleton of hepatocytes.