

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

2. Основы разведения насекомых должны базироваться на познании физиологических изменений, происходящих в культуре насекомых в процессе их разведения.

3. Введение биоматериала в техноценоз и создание исходной популяции (основателей), на этом этапе должна проводится работа по очистке культуры от паразитов, хищников и других сопутствующих видов. При монокультуре в замкнутой биотехнической экосистеме правильнее говорить о техноценозе (Злотин, 1981; Тамарина, 1987).

4. При культивировании насекомых взаимосвязи организмов должны формироваться под влиянием экспериментатора.

5. Закладка маточной культуры для длительного воспроизводства насекомых должна поддерживаться определенными методами культивируемого вида, способствующие сохранить ее заданные свойства.

Список литературы

1. Тамарина, Н. А. Основы технической энтомологии [Текст] / Н. А. Тамарина. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1990. – 204 с. 2. Злотин, А. З. Техническая энтомология [Текст] : справ. пособие / З. Злотин. – К. : Наук. думка, 1989. – 186 с. 3. Дербенева-Ухова, В. П. Экология личинок *Musca domestica* L. в природе [Текст] / В.П. Дербенева-Ухова // Мед. паразитология. – 1937. – Т. 4, ч. 3. – С. 409-417. 4. Погодина, Е. А. К методу разведения комнатной мухи [Текст] / Е. А. Погодина // Зоол. журн. – 1954. – Т. 33, вып. 6. – С. 142-144. 5. Полякова, Ю. Б. Комнатная муха *Musca domestica* (Diptera, Muscidae) как биоиндикатор технологического загрязнения окружающей среды [Текст] / Ю.Б. Полякова // Энтотол. обозрение. – 1988. – Т. 77, вып. 2. – С. 289-294. 6. Мищенко, А. А. Эколого-фаунистический анализ Histeridae (Coleoptera) Лесостепной зоны левобережной Украины [Текст] / А. А. Мищенко, А. Н. Машкей // Исследования по энтомологии и акарологии на Украине : тез. докл. II съезда Укр. энтотол. о-ва, 1-3 окт. 1980. – Ужгород, 1980. – С. 46-47. 7. Злотин, А. З. Теоретическое обоснование массового разведения насекомых [Текст] / А. З. Злотин // I Всес. конф. по промышленному разведению насекомых : тез. докл. (Москва, февраль 1986). – М. – С. 12-13. 8. Котляр, В. И. Лабораторное разведение *Musca autumnalis* Dgr. (Diptera: Muscidae), экспериментальное изучение биологии и микробиологического метода борьбы с ней [Текст] : автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. И. Котляр. – Х., 1974. – 30 с. 9. Машкей, И. А. Экспериментальное изучение биологии и возможности лабораторного содержания *O. casanion* (Diptera: Muscidae) [Текст] / И.А. Машкей, А.Н. Машкей // Исследования по энтомологии и акарологии на Украине : тез. докл. II-го съезда Укр. энтотол. о-ва, 1-3 окт. 1980. – Ужгород, 1980. – С. 114-115. 10. Машкей, А. М. Создание стандартной K75Fn линии лабораторной культуры комнатной мухи *Musca domestica* /Diptera: Muscidae/. [Текст] / А. М. Машкей, А. А. Мищенко, Л. П. Коломацкая // Вет. медицина : міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2005. – Вип. 85, т. 2. – С. 764-767.

INSECT LABORATORY COLONIES USAGE IN THE VETERINARY SCIENCE

Zlotin A.Z.

Kharkiv National Pedagogical University named after G. S. Skovoroda,

Mischenko A.A., Mashkey A.N.

National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv

Article presents modern data about usage of the insect laboratory colonies in the veterinary research aimed on development of integrated pest management programs in the livestock.

УДК 579.887.9:616.37-078

МЕТОДИКА ПІДГОТОВКИ І ПРОВЕДЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ АНАПЛАЗМ І ЕРЛІХІЙ В ЗРАЗКАХ КЛІНІЧНОГО МАТЕРІАЛУ ТА ОБ'ЄКТАХ ОТОЧУЮЧОГО СЕРЕДОВИЩА

Килипко Л.В., Семеренська Є.І.

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 (AI) та ерліхіозна інфекції (EI) об'єднані в одну групу трансмісивних інфекційних захворювання людей та ссавців, що викликаються облигатними внутрішньоклітинними патогенами – бактеріями родів *Anaplasma* і *Ehrlichia*, характеризуються розвитком синдрому загальної інфекційної інтоксикації та специфічним враженням переважно білих клітин крові [1, 2]. На теперішній час спорадичні і групові випадки AI та EI зареєстровані на всіх континентах (за винятком Антарктиди), більш ніж в 50-ти країнах світу, в тому числі в країнах Європи та в Україні. Вперше етіологічну верифікацію випадків гранулоцитарного анаплазмозу людини в Україні здійснено у 2007 році співробітниками лабораторії трансмісивних вірусних інфекцій Львівського НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України.

В Україні методи лабораторної діагностики AI та EI не розроблено, відомості щодо виділення регіональних штамів *Anaplasma* spp. та *Ehrlichia* spp. майже відсутні. За цих умов переважна більшість випадків AI та EI в Україні не діагностуються з подальшим негативним впливом на ефективність лікування і профілактики цієї групи інфекційних захворювань. Тому для галузі охорони здоров'я України актуальним завданням є розробка сучасних методів лабораторної діагностики анаплазмозу та ерліхіозу з використанням бактеріологічних, імунологічних та молекулярно-генетичних технологій.

Біологічний метод дослідження зразків клінічного матеріалу та зразків об'єктів оточуючого середовища був випробуваний з метою оцінки його ефективності для накопичення і послідуочної ідентифікації збудників AI та EI.

Матеріали і методи. З метою накопичення і послідуочної ідентифікацією збудників AI та EI було апробовано біологічний метод дослідження зразків клінічного матеріалу (від 4 хворих) та зразків об'єктів оточуючого середовища (101 кліща) з використанням 39 самців мишей білих лабораторних із штучно створеним імунокомпрометованим станом (з них 3 тварини контрольної групи).

Штучний імунокомпрометований стан створювали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,2 мл гідрокортизон ацетат 2,5 % (виробництва ВАТ «Фармак», м. Київ, Україна) за 3-4 год. перед їх зараженням досліджуваним матеріалом.

Зараження мишей здійснювали інтраперитонеальним способом, інюкуючи 0,3 мл біологічного матеріалу (периферійна кров пацієнтів, укушених кліщем, гомогенат кліщів). Тварин контрольної групи заражали аналогічним способом використовуючи RPMI 1640, склад якого аналогічний середовищу для вирощування клітин HL-60. Термін спостереження за піддослідними тваринами становив 10-12 діб.

У загиблих та морталізованих (методом гіпернаркозування хлороформом) тварин із дотриманням правил асептики відбирали тканини, які потенційно можуть містити найбільшу кількість клітин-мішеней для збудників AI і EI: кров (методом пункції серця), клітини перитонеальної порожнини (до складу яких в переважній більшості входили макрофаги і значно в меншій кількості – лейкоцити, лімфоцити, еритроцити та інші). Для отримання клітин перитонеальної порожнини в неї вводили 2,0 мл охолодженого до $t^{\circ} = 4-6^{\circ}\text{C}$ середовища RPMI 1640, склад якого аналогічний середовищу для вирощування клітин HL-60.

Після масажу живота тварини (впродовж 15 хв.) стерильним шприцом, запобігаючи травмуванню кишечника відбирали 1,5 мл перитонеальної рідини в стерильну пробірку Епендорф. Відмивали клітини шляхом дворазового низькошвидкісного центрифугування (при 1000 об./хв. впродовж 3 хв.) з використанням вищезазначеного середовища RPMI 1640. Після другого етапу центрифугування супернатант відкидали, а 0,3 мл осаду використовували для подальших досліджень.

Для виявлення методом світлової мікроскопії внутрішньо-цитоплазматичних морул в клітинах-мішенях (присутність яких може свідчити про наявність бактерій родів *Anaplasma* і *Ehrlichia*) готували із дотриманням загальноприйнятої технології мазки крові і клітин перитонеальної порожнини. Препарати мазків клітин перитонеальної порожнини фарбували методом Романовського-Гімза в авторській модифікації.

Результати досліджень. Після зараження мишей відмічали їх загибель та наявність клінічних ознак захворювання у порівнянні із контрольною групою інтактних тварин: зниження рухливості та апетиту, інертність при тактильному та звуковому подразненні, згорблена посадка, кульгавість, метеоризм, втрати близько 30 % маси тіла [3, 4]. Результати дослідження представлені в таблиці.

Висновки. Проведено випробування біологічного методу дослідження зразків клінічного матеріалу і зразків об'єктів оточуючого середовища для виявлення та ідентифікації збудників AI і EI. При наявності ряду недоліків, в цілому, підтверджено потенційну можливість застосування біологічного методу для розв'язання вказаних завдань, про що свідчать результати виявлення у 7,1 % зразків перитонеальних макрофагів лабораторних тварин (інфікованих гомогенатами кліщів) морулоподібних утворень, специфічність ґенезу яких планується підтвердити позитивними результатами ПЛР при вибіркового тестуванні як зразків гомогенатів кліщів, так і зразків клітин перитонеальної порожнини, що були отримані від інфікованих піддослідних тварин.

Таблиця – Результати дослідження біологічним методом зразків крові пацієнтів, укушених кліщем та зразків гомогенатів кліщів

Походження дослід-жуваних зразків	Кількість досліджених зразків	Кількість піддослідних тварин, абс.ч. (%)				
		заражених всього	загиблих	із клінічними ознаками захворювання	із морулоподібними утвореннями в лейкоцитах крові	із морулоподібними утвореннями в перитоне-альних макрофагах
Кров пацієнтів, укушених кліщем	4	8	1 (12,5)	2 (25,0)	0	0
Гомогенати кліщів: (<i>I. ricinus</i> , $n = 101$; <i>D. reticulatus</i> , $n = 16$)	28	28	2 (7,1)	3 (10,7)	3 (10,7)	2 (7,1)
Всього заражених	32	36	3 (8,3)	5 (13,9)	3 (8,3)	2 (5,6)
Контроль-на група	3	3	0	0	0	0

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. Li, J. S. Survival, replication, and antibody susceptibility of *Ehrlichia chaffeensis* outside of host cell [Text] / J. S. Li, G. M. Winslow // *Infect. and Immun.* – 2003. – Vol. 71, No. 8. – P. 4229-4237.
4. Sotomayor, E. A. Animal model of fatal human monocytotropic ehrlichiosis [Text] / E. A. Sotomayor, V. L. Popov, H.-M. Feng [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2001. – No. 158. – P. 757-769.

METHODS OF PREPARATION AND BIOLOGICAL RESEARCH FOR DETECTION AND IDENTIFICATION OF ANAPLASMA AND EHRLICHIA IN SAMPLES OF THE CLINICAL MATERIAL AND OBJECTS OF ENVIRONMENT

Kylypko L.V., Semerenska Ye.I.

Kharkov Regional Sanitary Epidemiological Station of Ukraine,

Tymchenko O.M.

Institute of Microbiology and Immunology named after I.I. Mechnikov, Kharkiv

There was tested biological method of research of samples of clinical material and objects of environment for the purpose of an estimation of its efficiency for accumulation and the subsequent identification of anaplasmosis and ehrlichiosis agents.