

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО И СЕРОЛОГИЧЕСКИХ (РНИФ, РНГА) МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ МИКОПЛАЗМОЗА СВИНЕЙ

Приведены результаты сравнительного изучения микробиологического и серологических (реакция непрямо́й иммунофлуоресценции, реакция непрямо́й гемагглютинации) методов диагностики микоплазмоза свиней, комплексное применение которых позволяет наиболее полно выявлять больных и носителей.

Успех борьбы с инфекционными болезнями зависит от правильной и своевременной диагностики. При существующем уровне оснащённости ветеринарных лабораторий вполне доступны выделение и идентификация возбудителей большинства бактериальных инфекций на уровне видовой и серовариантной принадлежности. Однако лабораторная диагностика микоплазмозов и уреоплазмозов требует усовершенствования, так как при выделении этих микроорганизмов используют сложные микробиологические и культуральные методы, пока ещё не доступные для большинства лабораторий [1, 2, 3]. В связи с этим весьма актуальной проблемой является изыскание эффективных, высоко чувствительных и доступных для широкого практического применения экспресс-методов диагностики данных заболеваний.

Цель работы: сравнить чувствительность и диагностическую ценность различных методов диагностики микоплазмоза свиней.

Задачи:

1. В производственных условиях изучить чувствительность реакции непрямо́й иммунофлуоресценции (РНИФ) в сравнении с микробиологическим методом диагностики микоплазмоза свиней.

2. Определить чувствительность реакции непрямо́й гемагглютинации (РНГА) в сравнении с РНИФ.

3. Провести сравнительный анализ диагностической ценности микробиологического и серологических методов диагностики микоплазмоза свиней.

Материалы и методы:

Для микробиологической диагностики использовали жидкие и плотные элек-

тивные питательные среды для индикации микоплазм, разработанные ИВМ ОмГАУ совместно с Омским НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора [4, 5].

1) Г – для индикации глюкозоферментирующих микоплазм;

2) А – для индикации аргинин-зависимых микоплазм;

3) У – для индикации уреоплазм.

Посевы инкубировали при температуре 38°C. Учет роста проводили ежедневно в течение семи дней по изменению цвета индикатора. За ростом колоний на плотных средах наблюдали в течение 7-10 суток.

Антигены для постановки РНИФ готовили из трехсуточных культур микоплазм, выделенных от свиней, которые отмывали от питательной среды путем центрифугирования при 6000 g в течение часа, осадок после трехкратного ресуспендирования и последующего центрифугирования разводили физиологическим раствором до концентрации 1,7 млрд. микробных клеток в 1 мл по бактериальному стандарту мутности (ГИСК им. Л.А. Тарасевича).

Диагностические микоплазмозные сыворотки для постановки РНИФ получали путем гипериммунизации кроликов, которую проводили по схеме D. Schimmel в модификации Красикова А.П., Новиковой Н.Н. (2002) [5].

Эритроцитарный диагностикум для РНГА готовили путем сенсibilизации формализированных эритроцитов барана антигеном, полученным из смеси трех культур микоплазм (*M. hyosynoviae*, *M. hyorhinis* и *Ureaplasma* sp.), выделенных от свиней из хозяйств Омской и Тюменской областей [6].

Чувствительность РНИФ с микоплазмозными антигенами и сыворотками изучали в сравнении с микробиологическим методом, в качестве проб использовали цервико-вагинальную слизь больных и подопреваемых в заражении микоплазмозом свиноматок, суставную жидкость и патологический материал от поросят (табл. 1). Чувствительность РНГА определяли в

Таблица 1.

Чувствительность РНИФ и микробиологического методов исследования на микоплазмоз цервико-вагинальной слизи от свиноматок, суставной жидкости и патологического материала от поросят из хозяйств Омской и Тюменской областей.

Пробы	Кол-во проб	РНИФ, %	Микробиологический метод, %
Цервико-вагинальная слизь	60	87,5	76,2
Суставная жидкость	14	90	77,5
Патологический материал	32	23,7	30
Всего:	106	67	61,2

Таблица 2.

Чувствительность РНИФ и РНГА по результатам исследования на микоплазмоз сыворотки крови поросят и свиней из хозяйств Омской и Тюменской областей

№ проб	ЗАО «Новоазовское» свиньи		ЗАО «Новоазовское» поросята		ООО «Агрокомплекс Ударный» свиньи		ЗАО «Рось» свиньи		ООО «Титан» свиньи		ОАО «Атлант» свиньи	
	РНИФ	РНГА	РНИФ	РНГА	РНИФ	РНГА	РНИФ	РНГА	РНИФ	РНГА	РНИФ	РНГА
1.	1:25	1:100	1:25	-	1:800	1:200	1:100	1:50	1:800	1:100	1:50	-
2.	1:400	-	1:100	1:100	1:200	1:50	1:800	1:200	1:800	1:400	-	1:25
3.	1:800	1:50	1:800	1:100	1:100	1:50	1:200	1:200	1:50	1:200	1:400	1:50
4.	1:800	1:50	1:50	1:200	1:200	1:200	-	-	1:25	1:25	1:100	-
5.	1:50	1:50	1:25	-	1:800	1:50	1:25	-	1:400	-	1:800	1:400
6.	1:50	1:100	1:400	1:50	1:200	1:50	1:50	-	1:200	1:200	1:800	1:200
7.	1:800	1:50	1:200	1:100	1:50	-	1:400	1:50	1:800	1:400	1:50	-
8.	1:800	1:400	1:400	1:200	1:400	1:100	1:400	1:800	1:25	-	1:100	1:50
9.	1:200	1:200	1:400	1:100	1:50	1:50	1:200	1:100	1:100	1:25	1:200	1:200
10.	-	-	1:200	1:100	1:400	1:100	1:100	1:50	1:100	1:50	1:50	1:25
Всего	90%	80%	100%	80%	100%	90%	90%	70%	100%	80%	90%	70%

Примечание: в РНИФ и РНГА - указаны конечные разведения сывороток, реагирующие на четыре креста.

сравнении с РНИФ при исследовании сывороток крови от поросят и свиноматок из хозяйств указанных областей в разведениях с 1:25 до 1:800 (табл.2).

Результаты исследований:

При исследовании цервико-вагинальной слизи с помощью микробиологического метода выявлено 76,2%, а в РНИФ 87,5% микоплазмонасителей (табл.1). Положительные результаты в РНИФ совпали с микробиологическим методом в 60% случаев, при этом в РНИФ выявлено на 11,3% больше возбудителей микоплазмоза. Вместе с тем в РНИФ, при индивидуальном исследовании каждого животного, дополнительно к микробиологическому методу обнаружено 27,5% больных микоплазмозом животных.

При исследовании суставной жидкости от поросят с помощью микробиологического метода выделено 77,5%, а в РНИФ 90% микоплазм. Положительные результаты находок микоплазм в РНИФ совпали с микробиологическим методом в 65% случаев, при этом в РНИФ их выявлено на 12,5% больше. Однако в РНИФ дополнительно к микробиологическому методу об-

наружено 25% больных животных.

При исследовании патологического материала от поросят микробиологическим методом выявлено 30%, а в РНИФ 23,7% микоплазм. Положительные результаты РНИФ совпали с микробиологическим методом в 23,7% случаев. Вместе с тем с помощью микробиологического метода выявлено на 6,3% больше микоплазм, чем в РНИФ. В целом при эпизоотологическом обследовании хозяйств, с помощью микробиологического метода выявлено 61,2%, а в РНИФ 67%, т.е. на 5,8% больше возбудителей микоплазмоза свиней.

Таким образом, результаты исследований подтверждают, что полученные нами микоплазмозные антигены и кроличьи антиминоплазмозные сыворотки чувствительны в РНИФ, а данная реакция не уступает по чувствительности микробиологическому методу исследования, а в некоторых случаях даже превосходит его. Кроме того, с помощью РНИФ можно одновременно с индикацией микоплазм определять и их видовую принадлежность к *M. hyosynoviae*, *M. hyorhinis* и *Ureaplasma* sp.

Диагностическая ценность комплекса методов (микробиологический, РНИФ и РНГА) исследований на микоплазмоз в производственных условиях

Хозяйств-ва	Кол-во проб	РНИФ в %				РНГА в %		Микробиол. метод %
		сыворотка крови	цервиковагинальн слизь	суставная жидкость	патол. мат-л	сыворотка крови		
№1	10	100	90	-	-	90	90	
№ 2	10	90	-	80	-	80	80	
№ 3	24	80	90	100	-	60	75	
№ 5	8	-	-	-	10	-	20	
№ 6	7	-	-	-	20	-	20	
№ 6	8	-	-	-	30	-	20	
№ 7	20	95	90	-	-	80	70	
№ 8	19	100	80	-	35	90	100	
Всего:	106	93	87,5	90	23,7	80	47,5	

Примечание: материал получен из хозяйств: №1 – ЗАО «Рось» Калачинский р-н Омской обл., №2 – ООО «Группа компаний Титан» Омской обл., №3 – ОАО «Атлант» Бердюжский р-н Тюменской обл., №4 – ООО «Комплекс» Исетское Исетский р-н Тюменской обл., №5 – ООО «Согласие» Заводоуковский р-н Тюменской обл., №6 – ООО «Рощино» Тюменский р-н., №7 – ЗАО «Новоазовское» Азовский р-н Омской обл., №8 – ООО «Агрокомплекс Ударный» Горьковский р-н Омской обл.

Для определения чувствительности РНИФ и РНГА исследовали на микоплазмоз сыворотку крови от свиной и поросят из хозяйств Омской и Тюменской областей (табл. 2).

В ЗАО «Новоазовское» реагировало на микоплазмоз в РНИФ 90%, в РНГА – 80% свиной, 100% и 80% поросят соответственно от числа подозреваемых в заражении животных. В ООО «Агрокомплекс Ударный» РНИФ была положительной в 100%, РНГА – в 90% случаев; в ЗАО «Рось» в – 90% и в 70%; в ООО «Титан» в 100%, и – 80%; в ОАО «Атлант» в 90% и в 70% случаев соответственно. РНГА по чувствительности на 10-20% уступала РНИФ.

При сравнении диагностической ценности всех методов диагностики в комплексе (табл. 3) по результатам исследования сыворотки крови микоплазмоз был зарегистрирован с помощью РНИФ в 93%, РНГА – в 80% случаев. Микоплазмы и их антигены были обнаружены в цервиковагинальной слизи в РНИФ у 87,5%, в суставной жидкости у 90% животных и в патологическом материале в 23,7% проб, при этом положительные результаты серологичес-

ких тестов были подтверждены микробиологическим методом в 47,5% случаев.

Заключение:

Наиболее чувствительным диагностическим тестом является РНИФ, РНГА незначительно уступает ей. Вместе с тем комплексное применение РНГА и РНИФ для исследования сыворотки крови и цервиковагинальной слизи позволяет быстрее и более полно выявлять больных микоплазмозом свиной. При этом положительные результаты РНГА и РНИФ подтверждаются выделением микоплазм из биоматериала при микробиологическом исследовании, что указывает на их высокую диагностическую ценность. С помощью данных методов можно проводить прижизненные и посмертные исследования биоматериала, индикацию и идентификацию выделенных микоплазм по их антигенной структуре, а также изучать патогенез заболевания. Комплексные микробиологические и серологические исследования позволят своевременно выявлять как больных, так и микоплазмоносителей и проводить лечебно-профилактические мероприятия при данной инфекционной болезни.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, наиболее чувствительным диагностическим тестом является РНИФ, РНГА незначительно уступает ей. Вместе с тем комплексное применение РНГА и РНИФ для исследования сыворотки крови и цервиковагинальной слизи позволяет быстрее и более полно выявлять больных микоплазмозом свиной. При этом положительные результаты РНГА и РНИФ подтверждаются выделением микоплазм из биоматериала при микробиологическом исследовании, что указывает на их высокую диагностическую ценность. С помощью данных методов можно проводить прижизненные и посмертные исследования биоматериала, индикацию и идентификацию выделенных микоплазм по их антигенной структуре, а также изучать патогенез заболевания. Комплексные микробиологические и серологические исследования позволяют своевременно выявлять как больных, так и микоплазмоносителей и проводить лечебно-профилактические мероприятия при данной инфекционной болезни.

SUMMARY

The results of comparative study of the microbiological and serological (IFr, IHAr) methods of diagnostic of swine mycoplasmosis are shown here. The complex using of this methods allows to detect the infected animals as well as the carriers in full measure.

Литература

1. Андросик, Н.Н. Повышение активности эритроцитарных микоплазменных диагностикумов./ Ветеринария, 2000. №3. С.25
2. Гречухин, А.Н. Диагностика микоплазменной пневмонии свиней./ Ветеринарная практика: научно-практический журнал/ инст-т вет. биологии. СПб., 1997. №1. С. 10-15.
3. Armstrong C.H. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay and the indirect haemagglutination and complement fixation tests for detecting antibodies to *Mycoplasma hyopneumoniae* / C.H. Armstrong, M.J. Freeman, L. Sands-Freeman // *Canad. J. comp. Med.*, 1983. 47. P.464.
4. Рудаков, Н.В. Актуальные аспекты лабораторной диагностики урогенитальных микоплазмозов мелких домашних животных./ Н.В. Рудаков, Н.Н. Николаева, А.П. Красиков // Актуальные проблемы ветеринарной медицины в современных условиях и пути их разрешения./ Сб. науч. тр. ИВМ. Омск, 2000. С. 132-134.
5. Новикова Н.Н. Экспресс-методы диагностики ассоциативного урогенитального микоплазмоза плотоядных./ Дисс.канд.вет.наук, Новосибирск, 2002.
6. Андросик, Н.Н. Применение РНГА для выявления противомикоплазменных антител в сыворотке крови свиней./ Ветеринария, 1986. №4. С. 32

А.Б. Муромцев, К.Л. Мальцев, А.Д. Смоленков, А.А. Бендрьшев

*Калининградский государственный технический университет,
ООО «Научно-внедренческий центр Агробезопасность, Московский
государственный университет им. М.В. Ломоносова*

**ФАРМАКОКИНЕТИКА И СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ
ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ОКСИКЛОЗАНИДА,
АЛЬБЕНДАЗОЛА И АЛЬБЕНДАЗОЛА
СУЛЬФОКСИДА ИЗ ОРГАНИЗМА КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА И ОВЕЦ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ
ПРЕПАРАТА ГЕЛЬМИЦИД**

Наукой и практикой накоплен большой опыт по применению в животноводстве различных антигельминтиков. Они относятся к различным классам соединений и, как правило, обладают эффективностью против узкого круга паразитов, что вынуждает владельцев животных применять для лечения и профилактики десятки препаратов, далеко не безупречных в экологическом отношении и не безвредных для организма животного.

В последние годы поиск высокоэффективных противопаразитарных средств продолжается.

Специалистов всегда интересовала возможность создания и применения лечебных средств с широким спектром действия, в том числе, трематодозов, нематодозов и цестодозов.

В ООО «Научно-внедренческом центре Агробезопасность» разработали новый антигельминтный препарат в форме таблеток и гранул с содержанием действующих веществ оксиклозанида и альбендазола.

Целью работы – изучение фармакокинетики и сроков выведения остаточных количеств оксиклозанида, альбендазола (ABZ) и его метаболита – альбендазола сульфоксида (ABZ-SO) у крупного рогатого скота и овец после однократного применения в максимальной терапевтической дозе препарата гельмицида таблеток и гельмицида гранул.

Материалы и методы. В опыте использовали 36 голов коров черно-пестрой и симментальской пород 3-4 лет, живой массой 400-450 кг, 36 голов овец романовской породы 3 лет, живой массой 35-45 кг. Препараты задавали однократно из расчета: гранулы (на 100 кг массы животного) – крупному рогатому скоту – 7,5 г гранул, овцам - 3,75 г гранул; таблетки (на массу животного) крупному рогатому скоту – 1 таблетка на 35 кг; овцам – 1 таблетка на 45 кг.

Кормление животных до и во время проведения опыта: травяная резка, стандартный комбикорм, сбалансированный по основным показателям в соответствии