

УДК 619:616.98:579.882.11:636.2

Омаров А.М., Алиев Э.А.*Азербайджанский научно-исследовательский
ветеринарный институт (г. Баку)*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ В ХЛАМИДИОЗЕ РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Аннотация. Представлены результаты изучения иммунологических и молекулярно-биологических диагностических тестов на хламидиоз у разных видов животных, проведенных в Кубинской и Шабранской ветеринарных лабораториях. В ходе серологических исследований выявлена чувствительность реакций при диагностике хламидиоза, причем наиболее чувствительным оказался иммуноферментный анализ (ИФА). В ходе экспериментов получены результаты и по распространению хламидии в органах и тканях. При сравнении бактериоскопических и микробиологических методов, последний в целом более чувствителен, но по нему невозможно определить активность или же инактивность хламидий.
Ключевые слова: хламидия, хламидиоз, иммуноферментный анализ (ИФА), полимеразная цепная реакция (ПЦР).

A. Omarov, E. Aliyev*Azerbaijan Veterinary Research Institute, Baku*

COMPARATIVE STUDY OF IMMUNOLOGICAL AND MOLECULAR BIOLOGICAL DIAGNOSTIC TESTS FOR CHLAMYDIA OF DIFFERENT ANIMAL SPECIES

Abstract. We present the results of immunological and molecular biological diagnostic tests for Chlamydia in different animal species at Kuba and Shabran Veterinary Laboratories. In carrying out serological studies we have found the sensitivity of reactions in diagnosing Chlamydia. According to the studies, the most sensitive was the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In the course of the experiments we have obtained the results on propagation of Chlamydia in organs and tissues. When comparing bacterioscopic and microbiological methods, the latter is generally more sensitive, but it does not allow one to determine the activity or inactivity of Chlamydia.

Key words: Chlamydia, clamidiosis, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), polymerase chain reaction (PCR).

Хламидийные инфекции (хламидиозы) представляют группу инфекционных болезней, вызываемых своеобразными возбудителями – хламидиями, и широко распространены

во всем мире, в том числе в России, играя большую роль в патологии животных. Хламидии поражают более 20 видов млекопитающих, в том числе человека, и более 130 видов птиц, поэтому хламидиозы относятся к зооноз-

ным инфекциям. В хозяйствах, куда занесены хламидии, они вызывают явно или латентно (скрыто) протекающие инфекции, поражающие различные органы и ткани. Болезни проявляются разнообразными клиническими признаками: уро-генитальными, респираторными, энтеральными, суставными, неврологическими, глазными и генерализованными заболеваниями. Кроме того, хламидии в ассоциациях с другими микроорганизмами вызывают смешанные инфекции или отягощают их течение [1].

Хламидии – это мелкие грамотрицательные, неподвижные, облигатно паразитические бактерии, ретикулярные тельца (РТ) которых могут быть разнообразной формы (овальной, полулунной, в виде биполярных палочек и коккобацилл) и имеют размер от 300 до 1000 нм, а элементарные тельца (ЭТ) овальной формы могут иметь размер в диаметре 250-500 нм. ЭТ хламидий обладают инфекционными свойствами, антигеноактивны, способны проникать в чувствительную клетку, где и происходит цикл развития хламидий. Хламидии являются облигатными внутриклеточными микроорганизмами с уникальным циклом развития [2]. Предшествующие ЭТ хламидий более крупные РТ не имеют постоянного размера и структуры. У них нет нуклеоида. Их еще называют «незрелыми» или вегетативными частицами, и они не обладают инфекционными свойствами [3].

Хламидиозы – это группа контактно-родственных заболеваний человека, животных и птиц, вызываемых антигенно-родственными морфологически сходными бактериями (хламидиями). В настоящее время предложен ши-

рокий спектр методов лабораторной диагностики хламидийной инфекции, хотя до сих пор не сложилось единого мнения об их чувствительности. Лабораторная диагностика при хламидиозах основывается на прямом выявлении возбудителя или его антигенов и антител к нему, а также серологических данных [9].

Материалы и методы

При хламидиозе сельскохозяйственных животных для сравнительного анализа серологических реакций были отобраны три группы животных (коровы, буйволы и мелкий рогатый скот) и три серологические реакции (реакция связывания комплемента – РСК, реакция длительного связывания комплемента – РДСК, иммуноферментный анализ – ИФА). Для оценки реакций были отобраны сыворотки животных, показавшие положительные и сомнительные результаты по РСК. Также для оценки чувствительности и специфичности реакций были выбраны три вида лабораторных животных: кролики, морские свинки и белые мыши, которых заражали интраперитонеально (10^{-7} - 10^{-8} ELD₅₀/0,3мл) хламидийной культурой, полученной от овцы. Вводилось в перитонеальную полость морским свинкам 0,5 мл, кроликам 0,8 мл, белым мышам 0,3 мл инфицированного раствора.

Результаты исследований

Получены результаты сравнительного анализа различных видов сельскохозяйственных животных, спонтанно зараженных хламидиозом по РСК, РДСК и ИФА (табл. 1). Как видно, в диагностике хламидиоза наибо-

более чувствительна реакция ИФА. Со-мнительные сыворотки по РСК дают положительный результат по РДСК и ИФА. При сравнении серологических реакций с видами животных было выявлено, что более чувствительными к серологическим реакциям оказались

буйволы и мелкий рогатый скот. Менее чувствительными к серологическим реакциям оказались однокопытные животные (это объясняется нехваткой количества проб крови для анализов, а также отсутствием сомнительных результатов).

Таблица 1

**Результаты спонтанного заражения хламидиозом
различных видов сельскохозяйственных животных**

Вид животных	исследовано	РСК			РДСК			ИФА			РСК+РДСК+ ИФА
		положительная	процент	сомнительная	положительная	процент	сомнительная	процент	сомнительный	Слабый положительный	
КРС	1534	1328	86,6	206	1435	93,5	99	1437	93,7	97	1328
Буйволы	123	107	87,0	16	119	96,7	4	121	98,4	2	107
Однокопыт-ные	20	2	10	0	2	10	0	2	10	0	2
Овцы	213	195	91,5	8	210	98,6	3	213	100	0	195
Козы	65	43	66,2	22	47	72,3	18	57	87,7	8	43
Итого	1955	1675	85,7	270	1813	92,7	142	1830	93,6	125	1675

При проведении серологических исследований была выявлена чувствительность реакций. Таким образом, при диагностики хламидиоза из используемых серологических реакций наиболее чувствительной оказалась ИФА, её чувствитель-

ность составляет 88%. Наименее чувствительной оказалась РСК. При сравнении РДСК и ИФА результаты анализов были незначительными. Чувствительность реакции зависит от вида лабораторных животных (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная оценка серологических реакций на лабораторных животных экспериментально заражённых хламидийной культурой

виды животных	количество	РСК			РДСК			ИФА			РСК+РДСК+ИФА		
		положительные	процент	отрицательные	положительные	процент	отрицательные	положительные	процент	отрицательные	положительные	процент	отрицательные
Белые мыши	15	9	60	6	12	80	3	13	87	2	9	60	6
кролики	7	4	57	3	5	71	1	6	86	1	4	57	3
Морские свинки	10	7	70	3	8	80	2	9	90	1	7	70	3
Итого	32	20	63	12	25	78	6	28	88	4	20	63	12

Чтобы узнать распространение (бактеремия) отделившихся культур в органах и тканях, брали 15 белых мышей весом 7-8 граммов и по одному разу заражали интраназально культурой, полученной от буйволов, в дозе 0,1 мл каждой мышце (табл. 3). Распространение хламидии в органах и тканях было изучено путем патанатомического вскрытия белых мышей, умерших или усыпленных через

3, 5, 10, 15 и 20 дней после заражения. За тем куриный эмбрион заражался суспензией из органов и тканей. После заражения из желтка куриного эмбриона были получены мазки для микроскопии. Параллельно проводилась экстракция ДНК хламидии из органов и тканей для полимеразной цепной реакции (ПЦР, см. рис).

Таблица 3

Распространение хламидии в органах и тканях белых мышей, зараженных интраназально

Срок исследований (день)	Лимфоузлы			Печень	Селезенка	Почки	Легкие	Матка	Итого
	Подчелюстные	Подглоточный	Мезентериальный						
3	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	0/1
5	-/+	+/+	-/+	+/+	+/+	-/-	+/+	-/-	4/6
10	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	-/-	6/6

Продолжение табл. 3

Срок исследований (день)	Лимфоузлы			Печень	Селезенка	Почки	Легкие	Матка	Итого
	Подчелюстные	Подплоточный	Мезентериальный						
20	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/-	+/+	-/-	1/6
25	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
30	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
35	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
40	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
45	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
50	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/+	+/+	2/8
итог	1/10	2/10	1/10	3/10	3/10	0/6	10/11	6/6	26/73

Прим.: данные в знаменателе – результат анализов проведенных биологическими и бактериоскопическими методами, в числителе – микробиологических методов (ПЦР)

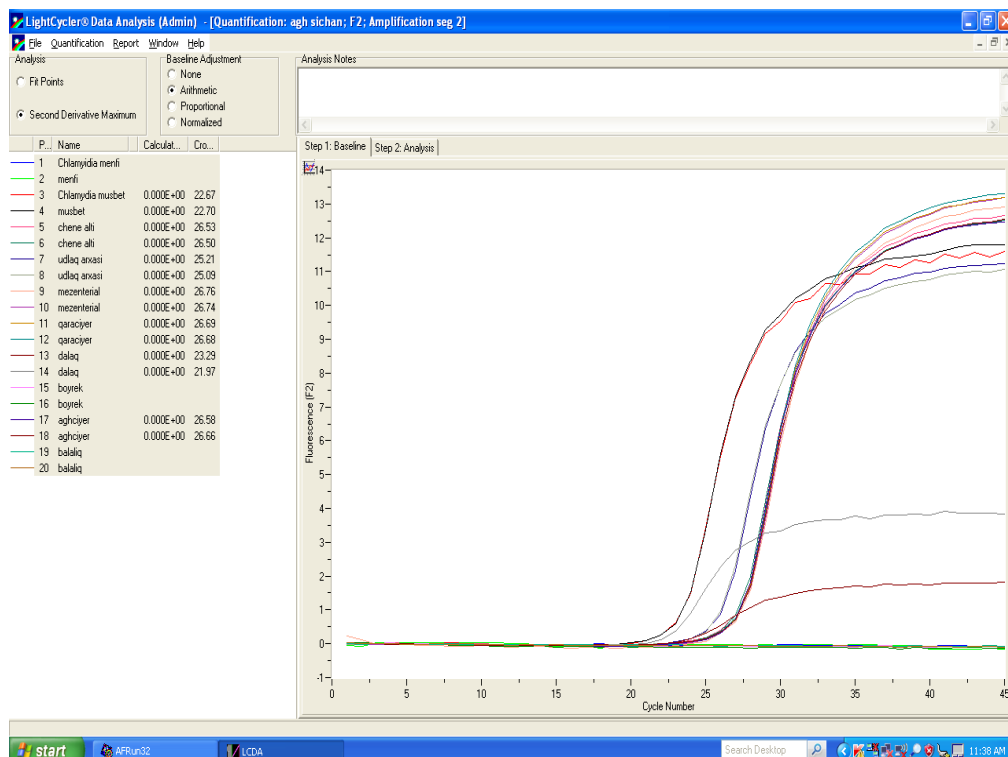


Рис. 1 Результаты ПЦР по распространению хламидий в органах и тканях белых мышей, зараженных хламидией

Наблюдение хламидии в органах и тканях *после* интраназального заражения дает основание полагать, что хламидии всасываются через слизистые пути дыхательной системы и затем распространяются в органах и тканях. На пятом дне заражения при проведении анализа возможно различить хламидии в региональных и мезентериальных лимфоузлах, печени, селезенке, а также в легких. При заражении в почках и половых органах хламидии обнаруживаются относительно поздно (после 25-го дня заражения). При сравнении бактериоскопических и микробиологических методов выясняется, что микробиологический метод более чувствителен. Таким образом, если при *первом* методе на третий день после заражения хламидии не обнаруживаются, то их можно обнаружить в

легких с помощью ПЦР. Так же, если результат бактериоскопических исследований регионарных лимфоузлов на 15-й день заражения отрицательный, то при ПЦР результат будет положительный. Но недостаток микробиологических методов заключается в том, что невозможно определить активность или же инактивность хламидий.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бессарабов Б.Ф., Воронин Е.С. Инфекционные болезни животных. – М.: Колос, 2007. – С. 331-334.
2. Караваев Ю.Д., Маркин Ю.Н. Хламидиозы животных – меры борьбы и специфической профилактики // Ветеринария. – 2003. – № 6. – С. 3-6.
3. Клиника, диагностика и лечение хламидийной инфекции: пособие для врачей / Л.В. Кудрявцева, О.Ю. Милорина, Э.В. Генерозов и др. – М.: РАМПЮ, 2001. – 61 с.