

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Декан факультету ветеринарної
медицини

Цвіліховський М.І.

“ _____ ” _____ 20__ р.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО

на засіданні кафедри біохімії і
фізіології тварин імені

акад. М.Ф. Гулого

Протокол № від “ ” 2020 р.

Завідувач кафедри

_____ Томчук В.А.

РОЗГЛЯНУТО І СХВАЛЕНО

на засіданні кафедри мікробіології,
вірусології і біотехнології

Протокол № від “ ” 2020 р.

Завідувач кафедри

_____ Мельник В.В.

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЗАРАЗНИХ ХВОРОБ

_____ (назва навчальної дисципліни)

напрямок підготовки 211 – “ Ветеринарна медицина”

_____ (шифр і назва напряму підготовки)

спеціальність ОС Магістр 211 – “ Ветеринарна медицина”

_____ (шифр і назва спеціальності)

спеціалізація Ветеринарна лабораторна діагностика

_____ (назва спеціалізації)

факультет ветеринарної медицини

_____ (назва факультету)

Розробники: проф., д.в.н., Мазур Т.В., доц. к.вет.н. Ібатулліна Ф.Ж.,

доц. к.вет.н. Мельник М.В.

_____ (посада, науковий ступінь, вчене звання)

Київ – 2020 р.

1. Опис навчальної дисципліни

Лабораторна діагностика заразних хвороб

(назва)

Галузь знань, напрям підготовки, спеціальність, освітній рівень		
Спеціалізація	Ветеринарна лабораторна діагностика	
Напрямок підготовки	<u>211 – “ Ветеринарна медицина”</u>	
Спеціальність	<u>211 – “ Ветеринарна медицина”</u>	
Освітньо-кваліфікаційний рівень	ОС «Магістр»	
Характеристика навчальної дисципліни		
Вид	Нормативна	
Загальна кількість годин	364	
Кількість кредитів ECTS	12	
Кількість змістових модулів	3	
Курсовий проект (робота) <small>(якщо є в робочому навчальному плані)</small>	-	
Форма контролю	Екзамен	
Показники навчальної дисципліни для денної та заочної форм навчання		
	денна форма навчання	заочна форма навчання
Рік підготовки	1,2	
Семестр	2,3	
Лекційні заняття	46 год.	
Практичні, семінарські заняття		
Лабораторні заняття	78 год.	
Самостійна робота	240 год.	
Індивідуальні завдання		
Кількість тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних самостійної роботи студента	8 год.	
-		

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Мета навчальної дисципліни – навчити студента необхідним теоретичним знанням й практичним умінням застосовувати державні та Міжнародні стандарти, щодо організації роботи мікробіологічних лабораторій; оцінювати придатність методик, простежуваність та невизначеність одержаних результатів вимірювань; навчити студентів створенню безпечних умов, щодо забезпечення біологічної безпеки при роботі з патогенними біологічними агентами в умовах біологічних лабораторій; привити найважливіші аспекти професійної діяльності спеціалістів ветеринарної медицини у забезпеченні біобезпеки та біозахисту у ветеринарних біологічних діагностичних лабораторіях; дати знання щодо міжнародних норм і законів України з регулювання питань біобезпеки та біозахисту у діяльності лікаря ветеринарної медицини.

Завдання - засвоїти програми профілактики та контролю хвороб.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

Знати:

- розвиток імунітету чи резистентності до інфекції у тварин; програми профілактики та боротьби, включаючи вакцинацію.

- знати, які хвороби тварин (включаючи домашніх тварин) вимагають обов'язкового інформування Компетентного органу, щоб запобігти їх поширенню;

- знати, де знайти актуальну інформацію щодо специфічних хвороб, їх попередження, контролю, включаючи механізми швидкого реагування.

- кращі практики обліку стану здоров'я тварин, принципи превентивної медицини, застосування принципів здоров'я тварин та етології, оцінка та зменшення факторів ризику, що провокують виникнення хвороб та негативно впливають на продуктивність.

- базові принципи та програми охорони здоров'я людей, розуміння концепції «Єдине здоров'я». Акцент повинен робитися на програми специфічні для країни, а також на міжнародні структури (напр.: МЕБ, Codex Alimentarius, СОТ, ФАО).

Вміти: - описувати існуючі програми попередження та боротьби з поширеними зоонозами, заразними хворобами, новими хворобами та хворобами, що швидко поширюються, включаючи ідентифікацію тварин, відслідковуваність та нагляд з боку відповідного ветеринарного органу;

- розуміти та брати участь в реалізації плану дії в надзвичайних умовах для контролю транскордонних хвороб, включаючи гуманний забій тварин;

- розуміти та брати участь у планових та екстрених вакцинаціях, а також у планових програмах планового дослідження, вибірки та лікування;

- пропагувати концепцію «системи раннього виявлення хвороб»;

- здійснювати перевірку та моніторинг стану тварини чи групи тварин з метою надання сертифікату щодо відсутності певних хвороб чи умов, відповідно до встановлених процедур;

- заповнювати, підписувати та надавати сертифікати про стан здоров'я відповідно до національних правил.

- вивчати формування та запровадження політики на місцевому, національному, регіональному та міжнародному рівнях через законодавство, регулювання та операційну стратегію; відповідна державна політика щодо ветеринарної медицини, здоров'я людей та тварин: інфекцій, що впливають на здоров'я, боротьби з хворобами тварин. Акцент повинен робитися на законодавство та організаційні структури специфічні для країни, а також на міжнародні структури (напр.: МЕБ, Codex Alimentarius, Європейська Комісія...).

2. Програма навчальної дисципліни

Теми лекційних занять

№ п/п	Зміст заняття	К-ть годин
Змістовний модуль 1. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІОЗІВ ТВАРИН		
1	Тема лекційного заняття 1. Діагностика сибірки. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудника. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики.	2
2	Тема лекційного заняття 2. Лабораторна діагностика клостридіозів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудників клостридіозів. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики(емфізематозного карбункулу, зляжкісного набряку,ботулізму, правцю, брадзоту, анаеробної ентеротоксемії). Роль в патології тварин і людини, особливості імунітету при клостридіозах.	2
3	Тема лекційного заняття 3. Лабораторна діагностика бруцельозу. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудника. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики. Роль в патології тварин і людини, особливості імунітету.	2
4	Тема лекційного заняття 4. Лабораторна діагностика туберкульозу, паратуберкульозу. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудника. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики. Роль в патології тварин і людини, особливості імунітету.	2
5	Тема лекційного заняття 5. Лабораторна діагностика псевдотуберкульозу, антропозоонозної чуми. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудника. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики.	2
6	Тема лекційного заняття 6. Лабораторна діагностика лептоспірозу. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено біологію та екологію збудника. Патогенез захворювання, імуногенез. Засоби та методи діагностики. Роль в патології тварин і людини, особливості імунітету.	2
7	Тема лекційного заняття 7. Лабораторна діагностика пастерельозу. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено систематику, морфологічні, тинкторіальні, культуральні і біохімічні властивості; антигенна структура, патогенність, фактори патогенності. Засоби та методи діагностики пастерельозу.	2
8	Тема лекційного заняття 8 . Лабораторна діагностика патогенних коків. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено загальну характеристику збудників, їх класифікацію. Біологічні властивості. Імунітет. Засоби та методи діагностики стрептококозів та стафілококозів.. <i>Vac.cereus</i> і т.п.), їх біологія, екологія та патогенні властивості. Заходи з попередження забруднення харчової продукції токсинами мікроорганізмів, методи лікування харчових токсикозів.	2
9	Тема лекційного заняття 9-10. Лабораторна діагностика мікозів та мікотоксикозів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено систематику, біологію та екологію грибів. Збудники мікозів: поверхневих, глибоких, вісцеральних. Збудники трихофітії, мікроспорії, парші, епізоотичного лімфангоїту, кандидамікозу. Особливості морфології і культивування. Патогенність. Патогенез захворювання. Особливості імунітету та специфічна профілактика. Біологія та екологія збудників стахіботріотоксикозу,	4

	аспергілотоксикозу, фузаріотоксикозу, пеніцилотоксикозу, дендродохіотоксикозу. Особливості патогенезу обумовлених ними захворювань. Лабораторна діагностика мікотоксикозів.	
Змістовний модуль 2. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІРОЗІВ ТВАРИН		
10	Тема лекційного заняття 1. Лабораторна діагностика інфекційних хвороб тварин вірусної природи. <i>Анотація:</i> у лекції викладено основні вимоги міжнародних та вітчизняних стандартів у галузі лабораторної діагностики вірусних хвороб тварин, а також засади біологічної безпеки роботи вірусологічної лабораторії (відділу).	2
11	Тема лекційного заняття 2-3. Глобальні проблеми екології вірусів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено проблеми впливу кліматичних змін, процесів урбанізації, забруднення довкілля, які генерують появу нових або видозмінених представників царства <i>Vira</i> . Розкриваються принципи їх превенції.	4
12	Тема лекційного заняття 4-5. Виділення вірусів на чутливих біологічних об'єктах. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено види біологічних об'єктів для виділення вірусів. Вимоги до об'єктів, умови проведення виділення, визначено принципи організації виділення вірусів на чутливих біологічних об'єктах. Гнотобіоти, стерильні тварини, SPF- ембріони. Вимоги GLP до приміщень, де проводять зараження та утримання тварин.	4
13	Тема лекційного заняття 6. Лабораторна діагностика рикетсіозів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено загальну характеристику рикетсій, їх біологічні особливості. Морфологічні ознаки. Спектр патогенності. Патогенез захворювання. Засоби та методи діагностики рикетсіозів.	2
14	Тема лекційного заняття 7. Лабораторна діагностика хламідіозів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено загальну характеристику хламідій, їх біологічні особливості. Морфологічні ознаки. Спектр патогенності. Патогенез захворювання. Засоби та методи діагностики хламідіозів.	2
15	Тема лекційного заняття 8. Лабораторна діагностика мікоплазмозів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено загальну характеристику мікоплазм, їх біологічні особливості. Морфологічні ознаки. Спектр патогенності. Патогенез захворювання. Хід лабораторної діагностики. Диференціальний діагноз. Експрес-діагноз на мікоплазмоз.	2
16	Тема лекційного заняття 9. Лабораторна діагностика повільних інфекцій (куру, вісна-маеді, губчастоподібної енцефалопатії). <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено основні принципи лабораторної діагностики хвороб пріонної етіології. Розкриті біологічні особливості збудників, хід лабораторної діагностики. Диференційний діагноз.	2
Змістовний модуль 3. МІКРООРГАНІЗМИ У СИРОВИНІ ТА ГОТОВИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ. НОРМУВАННЯ ЯКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ		
17	Тема лекційного заняття 1. Мікробіологія м'яса і м'ясних продуктів, ковбасних виробів і м'ясних консервів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено вимоги до організації лабораторій по дослідженню харчових продуктів. Виявлення мікроорганізмів та продуктів їх життєдіяльності у харчових продуктах. Фізичні, хімічні й біологічні методи в мікробіології харчових продуктів.	2
18	Тема лекційного заняття 2. Мікробіологія риби, рибних продуктів і промислових безхребетних <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено питання лабораторної діагностики бактеріальних збудників харчових токсикоінфекцій (сальмонели,	2

	ешерихії, ієрсинії, шигели, кампілобактерії і т.п.), їх біологія, екологія та патогенні властивості. Заходи з попередження забруднення харчової продукції збудниками.	
19	Тема лекційного заняття 3. Мікробіологія молока і кисломолочних продуктів. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено питання лабораторної діагностики бактеріальних збудників харчових токсикозів (клостридії, стафілококи).	2
20	Тема лекційного заняття 4. Мікробіологія яєць та яйцепродуктах, меду та продуктів бджільництва. <i>Анотація:</i> у лекції висвітлено питання лабораторної діагностики бактеріальних збудників харчових токсикоінфекцій, які можуть міститись у яйцепродуктах та продуктах бджільництва.	2
	Всього	30

Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин
	Змістовний модуль 1. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІОЗІВ ТВАРИН	
1	Алгоритм індикації та ідентифікування сибіркової бацили у досліджуваному матеріалі. Її диференціація від сапрофітних антракоїдів.	2
2	Алгоритм індикації та ідентифікування патогенний анаеробів у досліджуваному матеріалі. Їх диференціація та серотипування.	4
3	Алгоритм індикації та ідентифікування бруцел у досліджуваному матеріалі. Серотипування збудників бруцельозу.	2
4	Алгоритм індикації та ідентифікування збудника туберкульозу та паратуберкульозу у досліджуваному матеріалі. Диференціація патогенних мікобактерій від атипичних форм.	4
5	Алгоритм індикації та ідентифікування псевдотуберкульозу та антропоозонозної чуми у досліджуваному матеріалі. Методологія серотипування патогенних мікроорганізмів цих видів.	2
6	Алгоритм індикації та ідентифікування лептоспир у досліджуваному матеріалі. Їх серотипування.	2
7	Алгоритм індикації та ідентифікування пастерел у досліджуваному матеріалі. Методологія серотипування.	2
8	Алгоритм індикації та ідентифікування патогенних коків у досліджуваному матеріалі. Їх диференціація та серотипування.	4
9	Алгоритм індикації та ідентифікування збудників мікозів та мікороскозів у досліджуваному матеріалі.	4
10	Модуль 1	2
	Всього	28
	Змістовний модуль 2. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІРОЗІВ ТВАРИН	
11	Організація та обладнання вірусологічних лабораторій. Правила роботи з вірусами. Техніка безпеки. Методика первинної обробки матеріалу та його підготовка для вірусологічних досліджень. Бактеріальні фільтри і техніка фільтрування. Приготування посуду, сольових та живильних середовищ для культивування культур клітин.	2

12	Використання лабораторних тварин для діагностики захворювань вірусної природи (засвоєння методів зараження, правил розтину трупів). Відбір, консервування, транспортування патологічного матеріалу в лабораторію. Методи фарбування і мікроскопії елементарних тілець. Тільця-включення при захворюваннях вірусної природи. Методи їх виявлення.	2
13	Люмінісцентна мікроскопія. Вивчення будови люмінесцентного мікроскопа. Використання ЛМ в діагностиці вірусних захворювань.	2
14	Електронна мікроскопія та імуноелектронна мікроскопія. Будова ЕМ і принцип його роботи. Приготування препаратів для ЕМ та ІЕМ досліджень. Освоєння методики приготування ультра тонких зрізів для ЕМ досліджень.	2
15	Первинні клітинні культури. Вивчення методів одержання первинно-трипсинізованих культур клітин. Перещеплювані культури клітин. Вивчення методів підтримування цих клітин в лабораторії.	2
16	Культивування вірусів в клітинних культурах. Вивчення методів зараження культур клітин, виявлення цитопатологічної дії вірусів на клітини. Вивчення цитопатогенної дії вірусів на клітинні культури. Збирання, очищення, консервування і зберігання вірусмістимих матеріалів.	2
17	Титрування вірусів. Вивчення методів титрування вірусів за інфекційною дією, що оцінюється статистично.	2
18	Культивування вірусів в курячих ембріонах, що розвиваються. Засвоєння методів зараження КЕ. Культивування вірусів в курячих ембріонах, що розвиваються. Ознаки розмноження вірусу в КЕ. Розтин КЕ.	2
19	Гемаглютинуючі віруси. Вивчення методів постановки РГА. Освоєння серологічних методів діагностики вірусних захворювань. Постановка РЗГА, РГАд та РНГА.	2
20	Реакція дифузійної преципітації в агаровому гелі (РДП). Реакція нейтралізації. Методи постановки. Ідентифікація вірусу та визначення титру антитіл за допомогою РН.	2
21	Реакція з'язування комплексу (РЗК). Визначення типів та варіантів вірусу ящуру за допомогою РЗК.	2
22	Імуноферментний аналіз (ІФА). Застосування ІФА в лабораторній практиці. Вивчення стандартних діагностикумів, які використовуються у ветеринарній медицині.	2
23	Молекулярно-генетичні методи у вірусології (ПЛР).	2
24	Модуль 2	1
	Всього	27
	Змістовний модуль 3. МІКРООРГАНІЗМИ У СИРОВИНІ ТА ГОТОВИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ. НОРМУВАННЯ ЯКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ	
25	Організація лабораторного контролю безпечності тваринницької сировини та готової продукції за мікробіологічними критеріями. Мікробіологічний контроль якості продуктів харчування. Нормативна документація, що регламентує якість харчових продуктів за санітарно-гігієнічними показниками (СНіМБВ, ДСТУ, НД, СанПін). КМАФАМ та БГКП як показники якості харчових продуктів та санітарної культури підприємства.	2
26	Санітарно-мікробіологічний контроль м'яса та ковбасних виробів.	4
27	Санітарно-мікробіологічний контроль риби і рибних продуктів, напівфабрикатів.	4
28	Санітарно-мікробіологічний контроль м'ясних консервів і допоміжних матеріалів консервного виробництва (сіль, цукор, спеції, прянощі)	4

29	Санітарно-мікробіологічний аналіз молока та кисломолочних продуктів	4
30	Санітарно-мікробіологічний контроль рослинних продуктів: крупа, борошно, овочі	2
31	Мікробіологічний аналіз яєць і яйцепродуктів	2
32	Мікробіологічний контроль якості меду та інших продуктів бджільництва	2
33	Модуль 3	1
	Всього	25

7. Теми практичних занять

№ п/п	ЗМІСТ ЗАНЯТЬ	К-ть годин
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

8. Самостійна робота

№ п/п	ЗМІСТ ЗАНЯТЬ	К-ть годин
1	Періоди розвитку ветеринарної вірусології	7
2	Внесок вітчизняних вчених в розвиток ветеринарної вірусології	6
3	Структурна організація віріона	7
4	Біофізичні властивості вірусів	6
5	Витривалість вірусів у довкіллі	7
6	Генетичні та негенетичні форми взаємодії вірусів	6
7	Екологія вірусів	7
8	Класифікація вірусних інфекцій залежно від розвитку на рівні організму та клітини	6
9	Еволюція вірусів	6
10	Інфекція	5
11	ДНК-вакцини. Імуномодулятори	6
12	Заходи хіміопротекції вірусних інфекцій	6
	Всього	75

9. Самостійна робота «Лабораторна діагностика заразних хвороб»

Самостійна робота №1.

Тема: Основні періоди розвитку ветеринарної вірусології.

Завдання:

1. Викласти у вигляді схеми основні періоди формування вірусології.
2. Назвати найбільш суттєві досягнення у вивченні вірусів в період "Вивчення вірусів на рівні організму".

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с
2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерії	Бал
1	Схема основних періодів формування вірусології	Тип схеми передачі відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента .	4
2	Хронологічна таблиця найбільш суттєвих досягнень у вивченні вірусів у період " Вивчення вірусів на рівні організму ".	Тип таблиці відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента .	4

Самостійна робота №2.

Тема: Внесок вітчизняних вчених у розвиток вірусології.

Завдання:

1. Створити хронологічну таблицю відкриттів вітчизняних вчених з вірусології.
2. Знайдіть в Інтернеті зображення вітчизняних вірусологів.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с
2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Хронологічна таблиця з характеристикою вітчизняних вірусологів	Тип таблиці відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	4
2	Вітчизняні вірусологи	Для всіх перелічених елементів знайдено зображення, і кожне зображення підписане	4

Самостійна робота №3.

Тема : Структурна організація віріона.

Завдання :

1. Представити схему структури віріона.
2. Знайти в інтернеті зображення віріонів з кубічним та спіральним типом симетрії.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с
2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -9.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
---	------------------	----------	------

1	Схема структурної організації віріонів.	Тип таблиці відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	5
2	Віріони із кубічною та спіральною симетрією.	Для всіх перелічених елементів знайдено зображення, і кожне зображення підписане	4

Самостійна робота №4.

Тема: Біофізичні властивості вірусів.

Завдання:

1. Скласти схему біофізичних властивостей вірусів.

2. Представити коефіцієнти седиментації та флоатації вірусів хребетних у вигляді таблиці.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с.

2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Схема біофізичних властивостей вірусів	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристики кожного елемента.	4
2	Коефіцієнт седиментації та флоатації у вірусів хребетних	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристику кожного елемента.	4

Самостійна робота №5.

Тема: Resistant viruses in the environment.

Завдання:

1. Classify viruses for resistance in the environment.

2. Find on the Internet data about the stability of viruses in the environment objects.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с

2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Класифікація вірусів на основі стійкості у довкіллі	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристику кожного елемента.	4
2	Термін збереження життєздатності вірусів в об'єктах довкілля	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристику кожного елемента.	4

Самостійна робота №6.

Тема: Генетичні та негенетичні форми взаємодії вірусів.

Завдання:

1. Охарактеризувати форми генетичних взаємодій вірусів.

2. Охарактеризувати негенетичні форми взаємодії вірусів.

3. Створити схему класифікації генетичних та негенетичних форм взаємодії між вірусами, використовуючи схематичні діаграми.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -9.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Генетичні форми взаємодії вірусів	Схема структурних складників, їх назва та характеристика	3
2	Не-генетичні форми взаємодії вірусів	Схема структурних складників, їх назва та характеристика	3
	Схематична діаграма класифікації генетичних та негенетичних форм взаємодії вірусів	Тип схеми передачі структурних компонентів .	3

Самостійна робота №7.

Тема: Екологія вірусів.

Завдання:

1. Класична схема шляхів передачі вірусів.
2. Класична схема у розкритті теми: “Роль організмів Arthropods в екології вірусів”

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 426 с.
2. Панікар І.І., Скибіцький В.Г., Калініна О.С. Практикум з ветеринарної вірусології. – Суми: Козацький вал, 1997. – 236 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -9.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Схема шляху передачі вірусів	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристику кожного елемента.	5
2	Роль Arthropods в екології вірусів	Створити схему складників та структурних елементів, правильну їх назву, описати характеристику кожного елемента.	4

Самостійна робота №8.

Тема: Класифікація вірусних інфекцій з урахуванням рівня організму та клітини.

Завдання:

1. Класифікація вірусних інфекцій з урахуванням рівня організму.
2. Класифікація вірусних інфекцій з урахуванням рівня клітини.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
2. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1991. — 528 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Схема класифікації вірусних інфекцій з урахуванням рівня	Тип схеми відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує	4

	організму.	характеристики кожного елемента	
2	Схема класифікації вірусних інфекцій з урахуванням рівня клітини. of classification of the viral infection at the level of cell	Тип схеми відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	4

Самостійна робота №9.

Тема: Еволюція вірусів.

Завдання:

1. Класифікація антропогенних факторів, які впливають на екологію вірусів.
2. Створити презентацію на тему: "Роль геному господарів в екології вірусів".

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
2. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1991. — 528 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Схема класифікації антропогенних факторів , які впливають на екологію вірусів	Тип схеми відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	4
2	Роль геному господаря в екології вірусів.	Тип схеми відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	4

Самостійна робота №10.

Тема: Інфекція.

Завдання:

1. Класична схема синтезу інтерферона в клітині.
2. Принцип молекулярного механізму дії інтерферону.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
2. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1991. — 528 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Принцип та механізм синтезу інтерферона в клітині.	Тип схеми відповідає структурі матеріалу, охоплює всі складові елементи, правильні назви, описує характеристики кожного елемента	4
2	Принцип та молекулярний механізм дії інтерферону	Типи схем, ускладнених структурованою інформацією, назвами вмісту та характеристикою кожного компонента	4

Самостійна робота №11.

Тема: ДНК-вакцини. Імуномодулятори.

Завдання:

1. Характеристика специфічних противірусних препаратів для профілактики віро зів у тварин.
2. Характеристика сучасних препаратів-імуномодуляторів.

Література:

3. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибіцький В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
4. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1991. — 528 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -9.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Характеристика специфічних противірусних препаратів для профілактики віро зів у тварин.	Схема змісту компонента, його назви та характеристика .	5
2	Характеристика сучасних препаратів-імуномодуляторів	Схема змісту компонента, його назви та характеристика.	4

Самостійна робота №12.

Тема: Засоби хіміопротекції вірусних захворювань.

Завдання:

1. Класифікація та характеристика антивірусних препаратів.
2. Створити схему основних етапів репродукції вірусів, на які впливають антивірусні препарати.

Література:

1. Калініна О.С., Панікар І.І., Скибський В.Г. Ветеринарна вірусологія . м.Львів 2004р., 521 с.
2. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1991. — 528 с.

Форма відповіді:

Презентація у форматі ppt. Font 14 pt, міжстрочний інтервал – 1.5. кількість слайдів — 10.

Критерій оцінювання: Максимальний бал -8.

№	Елемент завдання	Критерій	Бали
1	Класифікація та характеристика антивірусних препаратів.	Властивості компонента, його назва та характеристика	4
2	Періоди репродукції вірусів, перебіг яких можна регулювати противірусними препаратами	Властивості компонента, його назва та характеристика	4

10. Методи навчання

1. Лекційний курс з «Ветеринарної вірусології».
2. Лабораторні заняття.
3. Самостійна робота студентів під керівництвом викладача.
4. Електронний курс “Veterinary Virology” <https://elearn.nubip.edu.ua/course/view.php?id=393>

11. Форми контролю

1. Тести зі змістовних модулів.
2. Підсумкова атестація (екзамен).

12. Розподіл балів, які отримують студенти

Поточний контроль			Рейтинг з навчальної роботи R _{НР}	Рейтинг з додаткової роботи R _{ДР}	Рейтинг штрафний R _{ШТР}	Підсумкова атестація (екзамен)	Загальна кількість балів
Змістовий модуль 1	Змістовий модуль 2	Змістовий модуль 3					
0-100	0-100	0-100	0-70	0-20	0-5	0-30	0-100

У робочому навчальному плані передбачено у одному навчальному семестрі:

Лекцій – 46 год.

Практичних занять – 0 год

Лабораторних занять – 78 год.

Самостійна робота – 240 год

ВСЬОГО – 12 кредитів (ECTS).

Форма підсумкового контролю знань — іспит.

Тривалість навчального семестру 15 тижнів.

Рейтинг студента із засвоєння дисципліни визначається за **100-бальною шкалою** і складається з рейтингу навчальної роботи $R_{НР}$ і рейтингу з атестації $R_{АТ}$.

$$R_{дис} = R_{НР} + R_{АТ}$$

(формула 1)

Рейтинги з навчальної роботи ($R_{НР}$) та з атестації ($R_{АТ}$) визначаються за такими співвідношеннями:

$R_{НР}$ = рейтинг з навчальної роботи (не більше 70% від кількості балів рейтингу з дисципліни)

$R_{АТ}$ = рейтинг з атестації (не більше 30% від кількості балів рейтингу з дисципліни)

Змістові модулі

Враховуючи обсяг та структуру програмного матеріалу дисципліни ділимо його на три змістовні модулі.

Розрахункову рейтингову оцінку з кожного змістового модуля приймаємо за 100 балів.

Змістовий модуль включає теоретичні питання лекційного матеріалу, освоєні положення лабораторних занять (рівень теоретичних знань, виконання практичних робіт, захист їх результатів, тощо) і самостійних робіт

Форма контролю - тести.

Рейтинг студента з навчальної роботи $R_{НР}$ визначається за формулою:

$$R_{НР} = \frac{0,7 \times (R(1)_{ЗМ} \times K(1)_{ЗМ} + R(2)_{ЗМ} \times K(2)_{ЗМ} + R(3)_{ЗМ} \times K(2)_{ЗМ}}{K_{дис}} + R_{др} - R_{штр}$$

(формула 2)

де : $R(1)_{ЗМ} \dots R(n)_{ЗМ}$ – рейтингові оцінки із змістових модулів за 100 шкалою;

n – кількість змістових модулів;

$K(1)_{ЗМ} \dots K(n)_{ЗМ}$ – кількість кредитів ECTS, передбачених робочим навчальним планом для відповідного змістового модуля;

$K_{дис} = K(1)_{ЗМ} + \dots + K(n)_{ЗМ}$ – кількість кредитів ECTS, передбачених робочим навчальним планом для дисципліни у поточному семестрі

Якщо $K(1)_{ЗМ} = \dots = K(n)_{ЗМ}$, тоді формула (2) буде мати такий вигляд:

$$R_{НР} = \frac{0,7 \times (R(1)_{ЗМ} + R(n)_{ЗМ})}{n} + R_{др} - R_{штр}$$

(формула 3)

На рейтинг з навчальної роботи можуть впливати рейтинг з додаткової роботи $R_{др}$ та рейтинг штрафний $R_{штр}$.

Рейтинг з додаткової роботи $R_{др}$ додається до $R_{НР}$ і не може перевищувати 10 балів (доповідь на студентській конференції, здобуття призового місця, виготовлення макетів, наочних посібників, тощо).

Рейтинг штрафний $R_{штр}$ не перевищує 5 балів і віднімається від $R_{НР}$ (пропуски занять, несвоєчасна здача модуля).

Для допуску до атестації студент має набрати не менше 60 балів із кожного змістового модуля, а загалом – не менше, ніж 42 бали з навчальної роботи.

Шкала оцінювання: національна та ECTS

Сума балів за всі види навчальної діяльності	Оцінка ECTS	Оцінка за національною шкалою	
		для екзамену, курсового проекту (роботи), практики	для заліку
90 – 100	A	відмінно	зараховано
82-89	B	добре	
74-81	C		
64-73	D	задовільно	
60-63	E		
35-59	FX	незадовільно з можливістю повторного складання	не зараховано з можливістю повторного складання
0-34	F	незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни	не зараховано з обов'язковим повторним вивченням дисципліни

КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ ДО ДИСЦИПЛІНИ «ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЗАРАЗНИХ ХВОРОБ»

Змістовний модуль 1. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІОЗІВ ТВАРИН.

Тема лекційного заняття 1. Діагностика сибірки.

Сибірка (*Anthrax*, сибирская язва) – гостре інфекційне захворювання тварин і людини. Характеризується септицемією, інтоксикацією та утворенням карбункулів. Латинська назва хвороби «Anthrax» пов'язана з тим, що на верхівці карбункулів у хворої людини утворюється виразка, яка пізніше, в результаті підсихання кірочок темного кольору, стає блискучою мов шматочок вугілля (антрацит).

Захворювання зустрічається в усіх країнах світу. Має, в основному, спорадичний перебіг, зрідка у вигляді ензоотій або епізоотій.

Збудник сибірки - *Bacillus anthracis* – представник родини Bacillaceae. У Визначнику бактерій Берджі (1997) рід *Bacillus* належить до Групи 18 – «Грампозитивні палички і коки, утворюючі спори».

Французькі вчені Давен та Райєр (1850), а дещо пізніше Поллендер (1855) і професор Дерптського ветеринарного училища в Росії Брауель (1857) спостерігали збудника у крові загиблих та хворих тварин. Брауель надавав цьому факту діагностичне значення. Проте остаточно значення спостережень згаданих дослідників було усвідомлене лише після того, як Давен (1863) експериментально довів етіологічне значення винаходів.

У чистій культурі *Bac. anthracis* була одержана Р. Кохом (1876) та Л.Пастером (1877).

Морфологія. *Bac. anthracis* порівняно велика паличка, 3-10 мкм довжиною і 1-1,3 мкм діаметром, нерухлива, утворює спори та капсулу. В мазках-відбитках з патологічного матеріалу розміщена поодинокі, парно та у вигляді коротких ланцюгів. У пофарбованих препаратах виявляється характерна ознака: кінці паличок, що стикаються поміж собою, різко «обрубані». Інколи спостерігається своєрідна форма ланцюгів у вигляді бамбукової палиці: мікробні клітини в місцях з'єднання дещо потовщені, а центральна їх частина стиснена. В мазках із патологічного матеріалу збудник має капсулу, із культур – має вигляд довгих стрептобацил. Лише атипові його штами утворюють коротенькі ланцюги.

Капсулоутворення спостерігається в організмі та на середовищах, збагачених кров'ю, кров'яною сироваткою.

Спори збудник утворює у зовнішньому середовищі при відповідних умовах (температура, наявність молекулярного кисню, волога). При температурі нижче 12 °С та вище 42 °С спори не утворюються.

Bac. anthracis добре фарбується спиртово-водними розчинами анілінових фарб, за Грамом – позитивно. Однак, у надто молодих чи, навпаки, старих культурах можуть зустрічатися і грамнегативні клітини.

Культуральні властивості. *Bac. anthracis* – факультативний анаероб. Добре росте в аеробних умовах, проте може розвиватися і в анаеробних. Температурний оптимум для росту і розвитку збудника – в межах 37-38 °С, оптимальний показник рН середовища – 7,2-7,6. До живильних середовищ не вибагливий. Росте на простих середовищах (МПБ, МПА, МПЖ), а також на картоплі, в молоці, у різних рослинних субстратах: настоях з соломи, сіна, екстракті з гороху, сої та ін.

Біохімічні властивості. *Bac. anthracis* ферментує з утворенням кислоти глюкозу, мальтозу, сахарозу, тригалоу, фруктозу та декстрин, арабінозу, рамнозу, галактозу, манозу, рафінозу, інулін, маніт, дульцит, сорбіт та інозит не змінює. Дає позитивну реакцію Фогес-Проскауєра, редукує метиленовий синій, відновлює нітрати. Збудник синтезує лецитиназу і повільно коагулює розчин жовтка курячого яйця. Має помірно виражену протеолітичну активність.

Антигенна структура. *Bac. anthracis* має соматичний полісахаридної природи (С) та капсульний глютамінполіпептидний (Р) антигени. Перший виявляють як у вірулентних штамів, так і у невірулентних. Він неімуногенний. Капсульний антиген характерний для вірулентних штамів збудника. Він дає перехресні серологічні реакції з поліпептидом *Bac. subtilis*, *Bac. cereus* та *Bac. megatherium*. Антигенна активність характерна також для екзотоксинів збудника.

Резистентність. Вегетативні клітини *Bac. anthracis* нестійкі. Вони гинуть у трупі протягом 2-3 діб. За тиждень труп повністю може звільнитися від збудника сибірки, при умові, що його не розтинали. При нагріванні до 60 °С вегетативна форма збудника гине за 15 хв., при кип'ятінні – миттєво, швидко

гине під дією прямих сонячних променів та дезінфікуючих речовин. Розчини формаліну (2 %-і), фенолу (5 %-і), хлораміну (5-10 %-і), свіжого хлорного вапна (6 %-і) вбивають його протягом 5 хв.

Низькі температури консервують збудника і його вегетативні форми можуть залишатися життєздатними тривалий час. Так, при -10°C вони виживають понад 20 дб.

Спори *Bac. anthracis*, навпаки – надзвичайно стійкі. Роками можуть зберігатися у трупах, воді, десятки років у ґрунті. Сухий жар при $120-140^{\circ}\text{C}$ вбиває спори лише протягом 2-3 год., при 150°C за – 1 год., кип'ятіння – за 1 год., автоклавування при 110°C – через 5-10 хв.

Bac. anthracis чутлива до пеніциліну, хлортетрацикліну і левоміцетину. Антагоністичну дію на неї виявляють сальмонели, кишкова паличка, протей, стафілококи, актиноміцети та ряд інших мікроорганізмів.

Патогенність. До сибірки досить чутливі усі травоядні тварини, свині малосприйнятливі. М'ясоїдні тварини відносно резистентні. Зрідка хворіють собаки, вовки, лисиці, пєсці. Серед птахів сибірку зарєєстровано у качок, страусів. Лабораторні тварини (білі миші, кролі, морські свинки) високочутливі до *Bac. anthracis*, хворіють при будь-якому введенні патологічного матеріалу або культури збудника. Досить чутливі до сибірки і люди.

Факторами вірулентності *Bac. anthracis* є його токсини, ферменти та капсулоутворення.

Збудник сибірки секретує складний екзотоксин. Він містить три компоненти: едематогенний фактор (EF), протективний антиген (ПА) та летальний фактор (LF) або відповідно I, II, III фактори.

Джерелом інфекції є хворі тварини, трупи загиблих, неупорядковані скотомогильники та ін.

Факторами передачі збудника можуть бути контаміновані корми, вода, повітря, кровососи, обслуговуючий персонал, різні види тварин.

Зараження тварин може бути аліментарним, через пошкоджені шкіру та слизові оболонки укуси кровососів. Людина може заразитись при контакті з хворими тваринами, при споживанні м'ясопродуктів від хворих тварин, при контакті з контамінованою збудником шкірсировиною та ін.

Труп загиблих від сибірки тварин здутий, залякання його не виражене. З природних отворів виділяється кров'яниста рідина. Кров темна, лакоподібна, незвернута. Лімфатичні вузли збільшені, пронизані крововиливами. Останні виявляють також у підшкірній клітковині. Там же – кров'янисті інфільтрати. Селезінка значно збільшена, що є однією з найхарактерніших ознак сибірки. Консистенція її дрябла, пульпа на розрізі тече у вигляді дьогтеподібної маси. Однак слід пам'ятати, що підозрілі на сибірку трупи розтинати суворо заборонено.

Діагностика. Лабораторна діагностика сибірки ґрунтується на проведенні мікроскопічного, бактеріологічного, біологічного та серологічного досліджень.

В лабораторію відсилають вухо (раковину), відрізане з того боку, на якому лежить труп, товсті мазки крові (нефіксовані). Якщо захворювання запідозрили після розтину трупа чи забою тварини, відбирають шматочки селезінки, печінки, лімфатичні вузли. Від свиней – заглоткові лімфатичні вузли та ділянки набряклої сполучної тканини. Патологічний матеріал повинен бути свіжим і терміново доставленим у лабораторію згідно з правилами доставки особливо небезпечного матеріалу.

Лабораторному дослідженню інколи підлягають також проби ґрунту, кормів, води, шкіри. Відбір і доставку їх здійснюють відповідно до діючих інструктивних матеріалів.

Імунітет. В результаті перехворювання сибіркою у тварин формується тривалий напружений імунітет. Він створюється також у результаті вакцинації тварин або застосування протисибіркової сироватки.

Основою протисибіркового імунітету є гуморальні та клітинні фактори. Протективні антитіла індукуються протективним антигеном, який, за сучасними даними, є одним з складових екзотоксину *Bac. anthracis*. Значення фагоцитозу в імунітеті проти сибірки відмічав ще І. І. Мечников (1901). Нині доведено суттєву роль в проти сибірковому імунітеті усіх клітинних факторів, причетних до збереження гомеостазу організму.

Для штучної імунізації тварин широко використовують живі спорові вакцини. Вперше вакцину проти сибірки запропонував Л. Пастер у 1881 р. Через два роки в Росії Л. С. Ценковський, скориставшись методикою Л. Пастера, приготував першу та другу вакцини проти сибірки. Дослідник вірулентну культуру збудника засівав у бульйон і інкубував при $42,5^{\circ}\text{C}$ протягом 12 дб. Таким чином було одержано першу вакцину. Другу вакцину виготовляли аналогічно. Різниця була лише у тому, що інкубація тривала не 12, а шість дб. Вегетативні клітини переводились у спорові при 35°C протягом шести дб. Спори стабілізували 30 %-м гліцерином.

Широкого застосування набула вакцина СТІ, запропонована Н. Гінзбургом (1940) на основі безкапсульного варіанта збудника сибірки (штам СТІ-1). Вакцину СТІ застосовують для профілактики сибірки у тварин. Імунітет настає через 10 днів після вакцинації і триває не менше року.

В Україні розроблено (Завірюха А.І.) ефективну вакцину з штаму К79-Z. Вона містить живі спори відповідного штаму збудника сибірки у 30%-му розчині гліцерину (рідка), або ж в середовищі висушування (суха). Вакцину застосовують для імунізації всіх видів сприйнятливих тварин. Імунітет настає через 2 тижні після щеплення і триває протягом року. Біофабрики випускають також подібну вакцину із штаму СБ.

Окрім живої вакцини, академік Завірюха А.І. запропонував інактивовану вакцину Антракол. Антракол (токсин-вакцина проти сибірки тварин) являє собою культуральну рідину збудника сибірки, (штам К79-Z), з вмістом екзотоксину як стимулятора росту. Використовується для щеплення всіх видів тварин у випадках, коли застосування живих вакцин протипоказане (вік тварини, фізіологічний статус та ін.), а також в разі необхідності термінового створення несприйнятливості стада. Імунітет настає протягом кількох годин після щеплення та триває 2,5 – 6 міс. В разі застосування інактивованої вакцини, через 2 тижні після зняття карантину, тварин необхідно прищепити живою вакциною.

Для пасивної імунізації проти сибірки використовують гіперімунну сироватку. Готують її шляхом гіперімунізації коней. Використовують сироватку як для профілактики, так і під час лікування тварин.

Крім гіперімунної сироватки, біофабрики готують також специфічний протисибірковий глобулін. Лікувальний ефект сироватки та глобуліну значно поліпшується при одночасному застосуванні антибіотиків. *Vac. anthracis* чутлива до пеніциліну, стрептоміцину, хлортетрацикліну, левоміцетину.

Тема лекційного заняття 2. Лабораторна діагностика клостридіозів.

Збудник емфізематозного карбункула

Емфізематозний карбункул (емкар) – гостре неконтагіозне захворювання переважно великої рогатої худоби. Характеризується утворенням крепітуючих набряків у місцях, багатих на м'язову тканину, високою летальністю. Захворювання реєструють на території усіх країн,

Збудник – *Cl. chauvoei* - відкритий Фезером в 1876 р. У чистій культурі вперше одержаний Ру (1887), а дещо пізніше Кітазато (1889).

Морфологія. *Cl. chauvoei* – пряма або злегка зігнута паличка із закругленими кінцями, довжиною 2-8 мкм та 0,6-1 мкм – в діаметрі, поліморфна. В мазках з патологічного матеріалу чи культури виявляють веретено-, грушо- та лимоноподібні, а інколи й кулясті форми *Cl. chauvoei*. Збудник рухливий. Капсули не утворює. Спороутворення спостерігається як в ураженому організмі, так і в зовнішньому середовищі. Спори розміщені центральне або субтермінально.

Аніліновими фарбниками фарбується добре, в молодих культурах – за Грамом позитивно, в старих — негативно.

Культуральні властивості. *Cl. chauvoei* – сировий анаероб. Оптимальна для розвитку температура 36-38 °С, рН середовища – 7,2-7,4. На простих живильних середовищах не росте. Культивують його на середовищі Кітт-Тароцці, глюкозо-кров'яному агарі Цейслера, мозковому середовищі.

Біохімічні властивості. *Cl. chauvoei* має протеолітичні ферменти, що зумовлює повільне розрідження желатини, яєчного білка та сироватки крові, що зсілася. Більшість штамів утворюють сірководень, індол не виявляється. Нітрати не редукує, ферментує з утворенням кислоти і газу глюкозу, галактозу, цукрозу, лактозу, мальтозу. Гліцерин, маніт, саліцин та інулін не змінює.

Антигенна структура. Збудник містить термостабільний соматичний (*O*) та термолабільний джгутиковий (*H*) антигени. Антигенної варіабельності не виявлено. Деякі відмінності *H*-антигену спостерігаються у штамів, ізольованих від великої рогатої худоби і овець.

Крім *O*- та *H*-антигенів збудник містить також споровий *S*-антиген. Останній має антигенну спорідненість з *Cl. septicum*.

Резистентність. Vegetативні форми збудника нестійкі. Спори, навпаки – надзвичайно резистентні. В ґрунті вони зберігаються десятки років і, при наявності необхідних умов, можуть проростати у вегетативні клітини. До 3 міс. збудник виживає у трупах, до 6 міс. – у гною, більше двох років – у солонині.

Під дією прямих сонячних променів він гине протягом 24 годин, при кип'ятінні – за 2 год. Під дією 3 %-го розчину формальдегіду збудник гине за 10-15 хв. Досить стійкий проти гідроксиду натрію, 6 %-й розчин останнього вбиває його лише за 6-7 діб.

Патогенність. У природних умовах хворіє переважно велика рогата худоба, рідше – вівці. Зустрічаються поодинокі випадки захворювання серед кіз, буйволів, оленів, лосів. Верблюдов і свиней вдається заразити в експериментальних умовах. Люди не хворіють.

Серед лабораторних тварин найбільш чутливі морські свинки. Щурі й білі миші малосприйнятливі. Кролі досить резистентні, проте їх можна заразити при одночасному застосуванні інших мікроорганізмів, зокрема сінної палички, а також при введенні молочної кислоти або хлориду кальцію.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на результатах бактеріологічного та біологічного досліджень. В лабораторію надсилають шматочки уражених м'язів, ексудат з набряків, кров. Матеріал слід відбирати не пізніше 4 год. після загибелі тварини. Мазки-відбитки фарбують за Грамом, методом Муромцева і мікроскопують. Результати мікроскопічного дослідження мають лише орієнтовне значення.

Матеріал висівають на середовище Кітт-Тароцці, в МПБ, на МПА, глюкозо-кров'яний агар. Інкубацію здійснюють протягом 24-48 год. З середовища Кітт-Тароцці здійснюють періодичні пересіви на кров'яний агар. На основі вивчення культуральних властивостей роблять попередній висновок щодо наявності збудника. Для остаточної його ідентифікації вивчають біохімічні властивості, патогенність.

Біологічну пробу ставлять на морських свинках. Для експрес-діагностики захворювання запропонована РІФ.

Імунітет. Тварини, які переохворіли, набувають стійкого тривалого імунітету. За своєю природою імунітет при емфізематозному карбункулі антитоксичний та антибактеріальний.

Для створення штучного імунітету запропоновано ряд біологічних препаратів. Перші вакцини являли собою висушені при 37 °С компоненти з уражених м'язів тварин, які загинули від емфізематозного карбункулу. Однак препарати виявилися досить реактогенними. Пізніше стали виготовляти культуральні вакцини (Леклоні, Валле, 1928; Муромцев С. Н., 1929), Ф.І.Каган та А.І. Колесова (1958) запропонували концентровану гідроксидалюмінієву формалвакцину проти емфізематозного карбункула великої рогатої худоби й овець. Вакцину вводять внутрішньом'язово в дозі 2 мл, незалежно від віку тварини. Імунітет настає через 12-14 діб і триває 5-6 міс.

На біофабриках України готують «Формалвакцину проти емфізематозного карбункула великої рогатої худоби і овець». Вакцинний штам збудника інактивований формаліном, антиген сконцентрований шляхом осадження за допомогою гідроксиду окису алюмінію. Препарат застосовують для імунізації великої рогатої худоби з 4-х, а овець – з 6-ти місячного віку. Імунітет формується на 14 добу і триває до 6 місяців.

Запропоновано також живу вакцину на основі високоімуногенного штаму 2/14. Цей штам протягом 44 років підтримували на штучних живильних середовищах і він втратив вірулентність, зберігши імуногенні властивості. Жива вакцина, виготовлена на основі штаму 2/14, значно перевершує за імуногенністю концентровану гідроксидалюмінієву формалвакцину і, що особливо важливо, зумовлює імунітет тривалістю 12 міс. і більше.

З профілактичною та лікувальною метою зрідка застосовують специфічну сироватку, одержану шляхом гіперімунізації телят або лоша́т.

Для лікування застосовують антибіотики тетрациклінового ряду.

Збудник правця

Правець (Tetanus) – гостра ранова неконтагіозна інфекція людини та тварин. Характеризується підвищеною рефлекторною збудливістю, клонічними й тонічними скороченнями мускулатури тіла або окремих груп м'язів, високою смертністю.

Збудник – *Cl. tetani*. Відкритий Н. Д. Монастирським (1883) та А.Ніколайерем (1884). Чиста його культура була одержана Кітазато, (1889).

Морфологія. *Cl. tetani* – тоненька паличка, довжиною від 3 до 12 мкм, діаметром 0,3-0,8 мкм. У культурах зустрічаються також ниткоподібні клітини. Рухлива (перитрих). Капсул не синтезує, утворює спори. Останні розміщені термінально, діаметр їх у 2-3 рази перевищує діаметр вегетативної клітини, що надає мікроорганізму характерного вигляду барабанної палички. Спороутворення може відбуватися як у зовнішньому середовищі, так і в ураженому організмі тварини, в місці розмноження збудника. В культурі спороутворення спостерігається звичайно на 2-3-тю добу культивування. Збудник добре фарбується аніліновими фарбами. В молодих культурах завжди грампозитивний, у старих – грамнегативний.

Культуральні властивості. *Cl. tetani* – облігатний анаероб. Оптимальна для його розвитку температура 36-38 °С, рН – 7,4-7,6. Збудник культивується на спеціальних живильних середовищах. На середовищі Кітт-Тароцці зумовлює значну каламуть і незначне газоутворення. Через кілька днів середовище просвітлюється і утворюється пухкий осад. Культура має характерний запах паленого

рогу.

Біохімічні властивості. Збудник правця в біохімічному відношенні малоактивний. Він не змінює ні моносахариди, ні багатоанатомні спирти. Лише окремі його штами здатні ферментувати глюкозу. *Сl. tetani* має незначно виражені протеолітичні властивості. Ферменти пероксидаза та оксидаза відсутні, що пояснює надзвичайну чутливість збудника правця до атмосферного кисню.

Резистентність. У вегетативній формі збудник термолабільний – гине протягом 20-30 хв. при 60-70 °С, швидко інактивується під дією дезінфікуючих речовин у загальноприйнятих концентраціях. Спори ж, навпаки, надзвичайно резистентні. Більше 10 років вони залишаються життєздатними на різних об'єктах зовнішнього середовища. У запаяних ампулах, в умовах кімнатної температури, спори не гинули до 30 років..

Прямі сонячні промені вбивають спори збудника лише за 3-5 діб, кип'ятіння – протягом 30-50 хв., 10 %-й розчин хлорного вапна – за 10 хв. 5 %-й розчин фенолу – за 8-10 год., 5 %-й розчин креоліну – за 5 год., 1 %-й розчин азотнокислого срібла – за 1 хв.

Антигенна структура. Збудник правця містить соматичний (*O*) та джгутиковий (*H*) антигени. Перший груповий, останній – типоспецифічний. Спори містять лише соматичний антиген. За характеристикою джгутикового антигену розрізняють 10 серологічних варіантів збудника. У природі циркулюють переважно перші два сероваріанти. Різні серологічні варіанти продукують імунологічно однорідний екзотоксин, який нейтралізується протиправцевою сироваткою.

Патогенність. На відміну від більшості патогенних анаеробів збудник правця не має факторів інвазивності. В той же час він продукує надзвичайно сильний фактор токсичності – екзотоксин. Останній містить два компоненти: тетаноспазмін та тетанолізін.

До токсину *Сl. tetani* чутливі ссавці усіх видів. Найбільш чутливими є коні, потім вівці, кози, велика рогата худоба, свині, собаки, коти, а також люди. Більш чутливими є молоді тварини. Серед лабораторних тварин надзвичайно чутливі білі миші, морські свинки, кролі.

Крім екзотоксину, факторами патогенності збудника правця є також РНК-аза та фібринолізін. РНК-аза токсична для лейкоцитів, гальмує фагоцитарну їх активність. Патогенна дія фібринолізину пояснюється, зокрема, тим, що він сприяє всмоктуванню екзотоксину.

Джерелом інфекції є переважно клінічно здорові тварини, у кишечнику яких є збудник правця, де він розмножується і виділяється у зовнішнє середовище, контамінуючи різні об'єкти. Майже постійно збудник виділяється з добре угноєного ґрунту, де він тривалий час може не лише зберігатися, а й розмножуватися.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на виявленні екзотоксину та виділенні збудника з наступною характеристикою його токсигенності.

У лабораторію надсилають шматочки тканини, взятої з глибини рани, гній, тампони, бинти та інші матеріали, які торкалися до рани. Від трупів – шматочки печінки, селезінки, кров. Якщо правець виник після родів або абортів, направляють виділення з піхви та матки, абортований плід.

Наявність екзотоксину в культурі чи безпосередньо у патологічному матеріалі визначають за допомогою біологічної проби. За зараженими тваринами спостерігають протягом кількох діб. При наявності у досліджуваному матеріалі токсину, приблизно через 48-96 год. з'являються клінічні ознаки захворювання у вигляді тонічного скорочення мускулатури тіла. Тварини гинуть у характерній позі – з витягненими кінцівками і викривленим хребтом у бік кінцівки, куди вводили матеріал.

Ідентифікацію токсину здійснюють за допомогою реакції нейтралізації на лабораторних тваринах. Суть її полягає у тому, що досліджуваний матеріал вводять разом з антиправцевою сироваткою. Якщо вона запобігає захворюванню і загибелі тварини, роблять висновок про те, що матеріал містив відповідний токсин. Правцевий токсин можна виявити також і за допомогою інших серологічних реакцій, зокрема реакції пасивної гемаглютинації. Перспективним є метод імуофлуоресценції, який дає змогу ідентифікувати збудника безпосередньо в патологічному матеріалі (експрес-діагностика) та в одержаній культурі.

Імунітет. Численні спостереження свідчать, що людина, мавпи, свині, морські свинки не набувають природного активного імунітету проти правця. У той же час жуйні тварини на це здатні. В організмі останніх постійно виявляють антитоксини. Вважається, що вони є результатом субінфекції, зумовленої розмноженням токсиноутворюючого збудника правця в рубці.

В Україні зареєстровано комбінований препарат «Nobi-Eyenza» проти грипу та правця коней (Нідерланди). Вакцина інактивована, містить антигени трьох штамів збудника грипу та очищений анатоксин збудника правця. Коней, які раніше не вакцинувались, щеплять з 4-х місячного віку з інтервалом 4 тижні та ревакцинують у 6 місяців. Імунітет формується на 21 добу та триває 1 рік.

З метою пасивної імунізації застосовують протиправцеву гіперімунну сироватку. Одержують її гіперімунізацією коней, інколи великої рогатої худоби або овець.

Протиправцеву сироватку застосовують при пораненнях, опіках, перед кастрацією чи іншими маніпуляціями у неблагополучних стадах тварин. Дорослим великим тваринам сироватку вводять у кількості 8000 АО (антитоксичних одиниць), дрібним тваринам і молодняку – 4000 АО. При тяжких пораненнях дозу збільшують вдвічі.

З профілактичною метою препарат застосовують підшкірно, з лікувальною – півдози вводять підшкірно та півдози – внутрішньовенно.

Збудник ботулізму

Ботулізм – гострий кормовий токсикоз з ознаками ураження центральної нервової системи. Характеризується розвитком парезів і паралічів, високою смертністю. Захворювання відоме з середини XII століття. Вперше воно було описане при спостереженні за хворими людьми, які заразилися, вживаючи зіпсовану ковбасу. Назва захворювання пов'язана з цією обставиною (лат. *botulinus* – ковбаса). Ботулізм у тварин став відомим на початку XX століття. Нині захворювання людини і тварин реєструють в усіх країнах.

Збудник - *Cl. botulinum* - відкритий у 1896 р. Ван Ерменгемом, який виділив його з ковбаси та шинки, а потім з селезінки та вмісту кишечника людини, яка померла після вживання названих продуктів. Належить до роду *Clostridium* родини *Bacillaceae*.

Морфологія. Збудник ботулізму – велика поліморфна паличка довжиною 4-9 мкм, діаметром – 0,3-0,8 мкм. Можуть зустрічатися і значно коротші – кокоподібні та довші – ниткоподібні клітини. В мазках розміщені поодиночі, по дві, інколи коротенькими ланцюжками. Перитрих. Проте у старих культурах джгутики часто відсутні, тому рухливість спостерігається переважно у молодій культурі. Збудник капсул не утворює. Спори овальні, розміщені термінально або субтермінально. В останньому випадку споруючі клітини мають характерний для цього мікроорганізму вигляд тенісної ракетки.

Збудник добре фарбується аніліновими фарбниками, грампозитивний у молодій культурі. В старих культурах переважають грамнегативні клітини.

Культуральні властивості. *Cl. botulinum* – облігатний анаероб. Культивується на спеціальних живильних середовищах; глюкозокров'яному агарі Цейслера, середовищі Кітт-Тароцці, бульйоні Хотінгера з шматочками печінки, під вазеліновим маслом. Температурний оптимум залежить від сероваріанта збудника. Збудники сероварів А, В, С та Д краще ростуть при температурі 35 °С, Е та F – при 28-30 °С. Спори останніх двох сероваріантів можуть проростати навіть при температурі 4 °С. Оптимальне рН для усіх сероваріантів збудника знаходиться у межах 7,4-7,6.

Біохімічні властивості. *Cl. botulinum* ферментує з утворенням кислоти та газу глюкозу, левульозу, мальтозу, гліцерин, декстрин, саліцин, інозит. Деякі сероваріанти (А, В) характеризуються високою протеолітичною активністю. Збудник викликає маслянокисле бродіння, що супроводжується запахом, який нагадує запах згірлого масла. Ферментативні властивості у збудника ботулізму нестабільні й залежать від його штаму, що потрібно враховувати в процесі ідентифікації.

Антигенна структура. Збудник ботулізму має сім серологічних варіантів: А, В, С (*Ci*, *Cg*), D, E, F та G. Кожний серологічний варіант характеризується специфічною імуногенністю, продукує відповідний екзотоксин. Визначають токсини за допомогою реакції нейтралізації. Специфічність у сероваріантів А, В та Е майже абсолютна, у сероваріантів С та D – відносна. Незначна кількість токсину С може нейтралізуватися антитоксином D і, навпаки, невелика кількість його нейтралізується антитоксином С.

Збудник ботулізму має соматичний (О) та джгутиковий (Н) антигени. Перший груповий, другий – типоспецифічний.

Резистентність. Збудник у вегетативній формі нестійкий у зовнішньому середовищі. При температурі 80 °С – гине за 30 хв., при кип'ятінні протягом 2-3 хв. Спори, навпаки, надзвичайно резистентні. Вони можуть витримувати кип'ятіння протягом кількох годин. Так, спори сероваріантів А та В гинуть лише через 6 год. Така ж резистентність і у серовару F. Спори серовару Е найменш резистентні проти високих температур. При автоклавуванні (+120 °С) протягом 30 хв. спори усіх сероваріантів збудника гинуть.

Спори *Cl. botulinum* надзвичайно резистентні й проти хімічних речовин. Не менше доби вони зберігаються у 5 %-му розчині фенолу, до 2 міс. не руйнуються в етиловому спирті.

Ботуліновий токсин при кип'ятінні руйнується протягом 15-20 хв. Проте якщо він знаходиться в продуктах (м'ясо, риба та ін.) для його знешкодження продукт потрібно кип'ятити кілька годин. Ефект при цьому залежить від об'єму та фізико-хімічної характеристики субстрату.

Патогенність. *Cl. botulinum* продукує найсильніший бактеріальний токсин. Він утворюється в

умовах анаеробіозу, при достатній вологості, в умовах нейтрального та слабкокислого середовища в продуктах та кормах рослинного або тваринного походження. Збудник ботулізму значно поширений у природі. Його виявляють у ґрунті, гною, воді, на поверхні рослин, в шлунково-кишковому тракті клінічно здорових людей і тварин, звідки він може контамінувати корми і, розмножуючись в певних умовах, зумовити нагромадження токсину. Нерідко причиною спалаху ботулізму є згодовування силосу, в процесі приготування, в який випадково потрапили трупи дрібних тварин (мишей, зайців, птахів та ін.). Умови, що створюються при силосуванні, забезпечують розмноження збудника, який нерідко входить до складу шлунково-кишкової мікрофлори згаданих тварин.

Діагностика. Лабораторна діагностика ґрунтується на виявленні токсину і в меншій мірі на виділенні збудника.

В лабораторію надсилають проби корму, підозрюваного в токсинуотворенні, кров та паренхіматозні органи від трупів.

Ботуліновий токсин виявляють біологічним методом. Звільнену від мікроорганізмів рідину вводять білим мишам масою 16-18 г у дозі 0,5-0,8 мл інтраперитонеально або підшкірно. Паралельно заражають мишей цим же, але прогрітим при 100 °С протягом 30 хв. матеріалом. При наявності ботулінового токсину тварини, яким вводили непрогрітий матеріал, захворюють з ознаками, характерними для ботулізму (послаблення м'язів, паралічі) і гинуть, а ті, яким вводили прогрітий – залишаються живими.

Крім білих мишей, для постановки біологічної проби з метою визначення ботулінового токсину можна використовувати також морських свинок.

Ідентифікацію токсину здійснюють за допомогою реакції нейтралізації. Досліджуваний матеріал перед введенням тварині змішують з полівалентною та моновалентними антиботуліновими сироватками і витримують протягом 30 хв. при 37 °С. Тварини, які одержали суміш токсину з гомологічною сироваткою, виживають, решта – гинуть.

Імунітет. При ботулізмі імунітет антитоксичний і типоспецифічний. Перехворілі тварини залишаються чутливими до інших сероварів збудника (токсинів).

Для штучної імунізації тварин застосовують ботуліновий анатоксин. Нині імунізують головним чином хутрових звірів, зокрема норок, оскільки цим тваринам нерідко згодовують неякісні м'ясні продукти, внаслідок чого вони часто хворіють на ботулізм.

Застосовують концентрований формол-галуновий анатоксин типу С. Норкам вводять його з 40-денного віку до 1 мл внутрішньом'язово. Несприйнятливість настає через 15-20 днів і зберігається протягом року.

Розроблена також асоційована вакцина проти ботулізму та пастерельозу норок. Препарат містить антиген *Cl. botulinum* сероваріанта С та *P. multocida* штаму «Норка». Вводять його внутрішньом'язово одноразово в дозі 1,5 мл незалежно від віку тварини. Імунітет формується протягом 2-3 тижнів і зберігається один рік.

У медичній практиці застосовують антиботулінову сироватку.

Збудники злякисного набряку.

Злякисний набряк (рановий газовий набряк, газова гангрена, газова інфекція) – гостра неконтагіозна рана інфекція тварин і людини.

Хворіють на злякисний набряк усі види тварин, у тому числі й птиця. Захворювання характеризується появою набряків у м'яких тканинах, некротичними явищами, інтоксикацією організму. Хвороба виникає частіше після поранень. Особливо небезпечні глибокі й колоті рани. Спостерігається вона також зрідка й після хірургічних втручань та акушерсько-гінекологічних маніпуляцій. До злякисного набряку чутливі й люди.

Захворювання зустрічається повсюди, має переважно спорадичний перебіг.

Збудники. Злякисний набряк – захворювання полімікробної етіології. Основними його збудниками є патогенні клостридії: *Cl. septicum*, *Cl. novyi*, *Cl. perfringens*, *Cl. histolyticum*, *Cl. sordellii*. У сільськогосподарських тварин захворювання частіше викликає *Cl. septicum* переважно в асоціації з іншими клостридіями. Збудники злякисного набряку значно поширені в природі, розмножуються у шлунково-кишковому тракті тварин та людини. Після загибелі тварини кількість їх надзвичайно збільшується у зв'язку з прониканням клостридій в органи і тканини, де вони інтенсивно розмножуються, контамінуючи ґрунт та інші об'єкти зовнішнього середовища. У ґрунті вони можуть перебувати тривалий час, а при наявності сприятливих умов ще й розмножуватися.

Збудник бра дзоту.

Брадзот (від *brad* – раптовий та *sot* – хвороба) – гостре інфекційне захворювання овець. Характеризується геморагічним запаленням сичуга, дванадцятипалої кишки, ураженням внутрішніх

органів, 100 %-ю летальністю. Хвороба поширена в країнах, що займаються вівчарством.

Збудник – *Сl. septicum*, інколи *Сl. novyi var. B. (Сl. gigas)*. Як збудник брадзоту *Сl. septicum*, визначений Н. Нільсеном у Норвегії в 1888 р. Пізніше було виявлено причетність інших видів патогенних анаеробів до етіопатогенезу захворювання. Зокрема, встановлено ускладнюючу роль *Сl. perfringens* та *Сl. sordellii*.

Збудник інфекційної анаеробної ентеротоксемії тварин

Інфекційна анаеробна ентеротоксемія тварин – гостра неконтагіозна токсикоінфекція різних видів тварин. Захворювання відоме під такими назвами: інфекційна ентеротоксемія овець, анаеробна дизентерія ягнят, ентеротоксемія великої рогатої худоби, некротичний ентерит поросят та ін.

Інфекційна анаеробна ентеротоксемія зустрічається повсюди. Збудники захворювання – різні серологічні варіанти *Сl. perfringens* надзвичайно поширені. Вони знаходяться і розмножуються у шлунково-кишковому тракті тварин, звідки потрапляють у зовнішнє середовище, контамінуючи ґрунт, воду, корми та інші об'єкти.

Захворювання виникає внаслідок проникнення збудника частіше аліментарним шляхом в організм тварини і подальшого інтенсивного його розмноження та токсиноутворення. Нерідко захворювання буває наслідком активізації ендогенної інфекції. У виникненні інфекційної анаеробної ентеротоксемії важливе місце належить факторам, що зумовлюють сприятливі умови для інтенсивного розмноження збудника. Зокрема, в разі порушень процесу травлення, при певних умовах, може підвищитись лужність вмісту кишечника, збільшитись кількість продуктів неповного білкового гідролізу, що створює селективні переваги для *Сl. perfringens* перед іншими мікроорганізмами. Все, що сприяє порушенню травлення – різка зміна корму, згодовування неякісних кормів, адинамія та інші причини, можуть призвести до виникнення інфекційної анаеробної ентеротоксемії.

В патогенезі захворювання основну роль відіграють екзотоксини збудника. Нагромаджуючись у кишечнику, вони зумовлюють запалення його слизової оболонки, уражують ендотелій судин, проникають у кров'яне русло і розносяться по всьому організму, спричиняючи загальну його інтоксикацію.

Захворювання неконтагіозне, однак може призвести до значних економічних втрат у зв'язку з високою летальністю, недосконалістю лікувально-профілактичних засобів.

Тема лекційного заняття 3.Лабораторна діагностика бруцельозу.

Бруцельоз - інфекційно-алергічна хвороба, схильна до хронічного перебігу, з тривалою гарячкою, ураженням опорно-рухової, нервової, серцевосудинної та сечостатевої систем організму.

Збудниками його є 6 видів бактерій із роду *Brucella* - *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis*. У людини бруцельоз викликають перші три види, *B. neotomae* - в лісних щурів, *B. ovis* - у овець, *B. canis* - у собак.

Морфологія і фізіологія. Бруцели - дрібні грамнегативні кокобактерії довжиною 0,6-1,5 мкм і шириною 0,5-0,7 мкм. Вони не мають джгутиків, не утворюють спор, в організмі можуть мати ніжну капсулу. У мазках розташовуються поодинокі, парами або невеликими скупченнями. Усі види бруцел морфологічно подібні.

Бруцели належать до облигатних аеробів. *B. abortus* у перших генераціях потребує в атмосфері над середовищем 5-10 % CO₂. До живильних середовищ вибагливі, краще всього ростуть на печінковому бульйоні й агарі, сироваткових середовищах, сироватко-декстрозному агарі. При посіві матеріалу від хворого бруцели розмножуються дуже повільно. Перші ознаки росту з'являються через 2-3 тижні. У наступних пересівах ріст виявляється через 2-3 дні. На рідких середовищах виникає каламуть і слизовий осад з перламутровим відтінком. Одним із ефективних методів розмноження бруцел є культивування їх у жирових (незапліднених) яйцях або у 12-денних курячих ембріонах.

Біохімічна активність бруцел незначна, вони не ферментують вуглеводів, не згортають молока, не розріджують желатин. Диференціацію різних видів бруцел проводять у реакції аглютинації зі специфічними сироватками, за утворенням сірководню, ростом на середовищах із бактеріостатичними барвниками (фуксин, тіонін).

Бруцели не виділяють екзотоксину, містять ендотоксин, який має високу алергенну активність, що використовують для постановки алергічної проби. Виділяють гіалуронідазу, завдяки чому мають значні інвазивні властивості.

Антигенна структура. Бруцели містять поверхнево розташовані Vi-антиген і два видоспецифічні А- й М-антигени, кількісне співвідношення яких у різних видів неоднакове. У *B. melitensis* домінує М-, а в *B. suis* - А-антиген. Більш глибоко знаходиться О-антиген.

Екологія. Різні види бруцел циркулюють серед певних видів тварин, викликаючи в них захворювання. У природних умовах *B. melitensis* спричиняє бруцельоз у кіз і овець, *B. abortus* - у корів, *B. suis* - у свиней. Від хворих тварин заражаються й люди. Із лабораторних тварин до бруцел чутливі гвінейські свинки, миші й кролики. Бруцели досить стійкі й життєздатні в зовнішньому середовищі. У воді вони зберігаються 80 днів, у молоці, маслі, бринзі - 60-120 днів, у ґрунті, сечі, шерсті й випорожненнях тварин - 3-4 місяці. До дії високої температури вони дуже чутливі, при кип'ятінні гинуть миттєво. Усі дезінфікуючі розчини викликають їх загибель протягом декількох хвилин.

Патогенез. Інкубаційний період триває від 7 до 30 днів і більше. Хвороба має виражений професійний характер: частіше виникає у ветеринарів, зоотехніків, працівників тваринних ферм і м'ясокомбінатів. Джерелом інфекції для людей є хвора дрібна та велика рогата худоба, свині, рідше олені. Найбільш патогенною для людини є *B. melitensis*. Захворювання частіше виникають у зимово-весняний період під час масових отелень та окотів.

Зараження людини може здійснюватися аліментарним, контактним і пиловим шляхом. Бруцели проникають через навіть неушкоджену шкіру й слизові оболонки. Завдяки сильним інвазивним властивостям вони швидко потрапляють у клітини лімфоїдно-макрофагальної системи. Із током лімфи проникають у кров. А з крові - в селезінку, кістковий мозок, лімфатичні вузли, де можуть довго зберігатися. Захворювання супроводжується тривалою гарячкою, пітливістю, болем у м'язах і суглобах, збільшенням лімфатичних вузлів, печінки й селезінки. Поступово хвороба може перейти у хронічну форму. З перших днів виникає алергізація організму, яка зберігається дуже довго.

Імунітет. Після перенесеної хвороби виникає певний рівень несприйнятливості, зумовлений збільшенням активності Т-лімфоцитів, фагоцитарної реакції й розвитком гіперчутливості сповільненого типу. Менше значення має утворення антитіл.

Лабораторна діагностика. Бруцельоз - особливо небезпечна хвороба й мікробіологічні дослідження (крім серологічних реакцій) проводяться в спеціальних режимних лабораторіях. Для виділення збудника у хворих забирають кров, сечу, ліквор, кістковий мозок, синовіальну рідину та сіють на печінковий або гліцериновий бульйон з антифаговою сироваткою. Один посів інкубують при звичайних умовах, другий - в атмосфері 10 % діоксиду вуглецю. Вирощування триває до місяця й більше. У зв'язку з цим, бактеріологічний метод застосовують нечасто. Кращий і швидший результат отримують при введенні матеріалу в жовток свіжого яйця або курячого ембріону. Біологічну пробу роблять на гвінейських свинках або білих мишах у тих же лабораторіях.

Значно частіше використовують серологічний та алергічний методи діагностики. Найпоширенішою є розгорнута реакція Райта і мікроаглютинації Хаддльсона. Вони стають позитивними з 10-12 дня початку хвороби. Діагностичний титр реакції Райта 1:200 і вище. Ще чутливішою є РІФ і РНГА. Важливе практичне значення має високоспецифічна алергічна проба Бюрне - внутрішньошкірне введення бруцеліну. Потрібно враховувати, що вона буде позитивною в щеплених бруцельозною вакциною та перехворілих.

Профілактика складається з комплексу ветеринарних і медико-санітарних заходів з охорони тваринницьких господарств від заносу бруцельозу, виявлення і забою хворих тварин, дезінфекції приміщень. Молоко від хворих тварин кип'ятять, бринзу, масло і тверді сири реалізують у торговій мережі після 2-3 місяців витримання.

При наявності бруцельозу козячо-овечого типу обов'язково проводять вакцинацію людей групи ризику бруцельозною вакциною, яка створює імунітет на 1-2 роки. При позитивній пробі Бюрне вакцинацію не проводять.

Для лікування в гарячковому періоді використовують антибіотики тетрациклінового ряду або аміноглікозиди, рідше рифампіцин, бісептол. Основним методом лікування хворих на хронічний бруцельоз є вакцинотерапія вбитою бруцельозною вакциною.

Тема лекційного заняття 4. Лабораторна діагностика туберкульозу, паратуберкульозу.

Туберкульоз (Tuberculosis) інфекційне захворювання людини і тварин, яке частіше перебігає хронічно й характеризується утворенням у внутрішніх органах і тканинах типових вузликів-туберкулів, схильних до казеозного переродження.

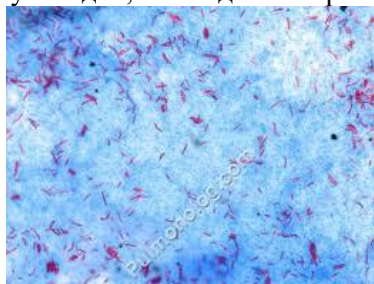
Туберкульоз людству відомий з давніх часів, проте його природа поступово з'ясовувалася, починаючи з середини ХІХ століття. Зокрема, Віллемен у 1865 р. довів його заразність. При цьому дослідник зумів заразити кролів і морських свинок матеріалами, одержаними від хворих на туберкульоз людей і великої рогатої худоби. Збудника хвороби відкрив у 1882 р. Роберт Кох, який у 1890 р. приготував і перший туберкулін.

В 1896 р. Леман і Нейман віднесли збудника туберкульозу до роду *Mycobacterium*. Протягом 1890 – 1898 рр. Маффучі і Сміт встановили відмінності між збудниками туберкульозу людини, великої рогатої худоби та птиці і цим підтвердили існування трьох основних видів збудника. В наступні роки були виявлені ще два види туберкульозних бактерій — мишачий і виділений від холонокровних, а також доведено наявність фільтрівних форм мікобактерій туберкульозу (L-форми).

Мікобактерії віднесені до порядку Actinomycetales, родини Mycobacteriaceae і роду *Mycobacterium*, який об'єднує близько 40 видів. Збудник туберкульозу має три основних види: *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* а також *M. murium*, *M. goodii*. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 21 «Мікобактерії».

Морфологія. *M. tuberculosis* – це прямі або злегка зігнуті палички довжиною 1-6 і шириною 0,3-0,6 мкм. Зустрічаються дуже короткі або видовжені й навіть гіллясті форми.

M. bovis – дещо коротші прямі або злегка зігнуті палички довжиною 1,5-2 і шириною 0,3-0,6 мкм. Цей вид є основним збудником туберкульозу у великої рогатої худоби, інших жуйних, рідше уражує людей, м'ясоїдних тварин і деякі види птиці.



M. tuberculosis

M. avium – основний збудник туберкульозу птахів, інколи викликає захворювання у свиней і великої рогатої худоби. У нього виражений поліморфізм: поряд з тонкими прямими або зігнутими паличками мікобактерій туберкульозу зустрічаються кокоподібні й нитчасті форми.

За даними професора Власенка В.В. для збудника туберкульозу є закономірний біологічний цикл його розвитку: артроспори, дроблення, ділення та інші, що визначає значний поліморфізм їх в процесі росту та розвитку і вимагає від дослідника особливої уваги під час інтерпретації результатів мікроскопічного дослідження відповідних матеріалів.

Збудник туберкульозу, як і інші мікобактерії, кислото- та спирто-стійкий, фарбується позитивно за Грамом, нерухливий, не утворює спор і капсул. Добре фарбується за методом Ціль-Нільсена.

Здатність мікобактерій протистояти короткочасному впливу мінеральних кислот, спиртів, антиформіну пояснюється в основному їх хімічною структурою. Зокрема, мікобактерії туберкульозу відрізняються високим вмістом ліпідів, на частку яких припадає 10-40 % сухої мікробної маси.

Культуральні властивості. Усі види збудника туберкульозу культивуються на елективних живильних середовищах в аеробних умовах. *M. bovis* – мікроаерофіл і в рідких та напіврідких середовищах росте в їх глибині. В лабораторних умовах при пересівах культура адаптується до росту в аеробних умовах. Оптимальна температура росту для *M. tuberculosis* 37-38 °С, *M. bovis* – 38-39 °С, *M. avium* – 39-41 °С з величиною рН для усіх видів 6,8-7,4.

Із елективних середовищ широко застосовують також середовища Гельберга, Петраньяні, Мордовського та інші, із синтетичних — Сотона, Моделя та інші, рецептура яких і спосіб приготування описані в спеціальних довідниках.

На щільних живильних середовищах *M. tuberculosis* на 20-30-ту добу після посіву утворює бородавчасті колонії (R-форма), рідше — з рівними краями і поверхнею (S-форма).

У рідких середовищах на 15-30-ту добу на поверхні утворюється потовщена зморщена плівка, краї якої дещо завертаються на стінки колби. Інколи на дні її помітні дрібні крупинки, рідина в усіх випадках прозора. *M. bovis* при первинному виділенні на щільних середовищах росте погано й перші ознаки росту з'являються лише через 30 – 60 діб.

Антигенна структура. Для всіх мікобактерій спільним є термостабільний антиген поліцукридної природи. Кожен вид збудника туберкульозу має від 4-6 до 8-10 антигенних компонентів, серед яких є і групові. Зокрема, *M. avium* має 4, сапрофітні мікобактерії – 2-3 антигени, ідентичні з антигенами *M. bovis*. Це в значній мірі ускладнює імунологічну діагностику туберкульозу через групові реакції. Незважаючи на спільність антигенних комплексів, виявилось, що окремі антигени мікобактерій різняться між собою за кількісною і якісною структурою хімічних речовин.

Резистентність збудника туберкульозу у зовнішньому середовищі значна. Пташиний вид в ґрунті на глибині до 2 см зберігає життєздатність протягом 13 міс, в глибших шарах не лише виживає, а й зберігає високу патогенність для кролів протягом 18 міс. У відкритих водоймах зберігається не

більше 12 днів. У воді, що знаходиться у приміщенні і в повітрі при розсіяному світлі, залишається живим до 7 міс, в сухому посліді – до 12 міс, у глибокій підстилці – 12 міс, а в приміщеннях, які не обігріваються – більше дев'яти років.

Нагрівання до 60 °С знищує збудника через 30-50 хв., але *M. bovis* витримує таку температуру навіть протягом 65 хв. При 80 °С туберкульозні бактерії гинуть через 5 хв., при кип'ятінні – у перші хвилини. В молоці резистентність мікробів посилюється і для їх знищення продукт необхідно нагрівати до 85 °С протягом 30 хв., або до 90 °С – 5 хв. Прямі сонячні промені інактивують збудника через 60 хв. Вплив мінеральних кислот мікроб переносить добре. В 5-10 %-му розчині сірчаної кислоти залишається життєздатним протягом 24 год. У зв'язку з цим для дезінфекції при туберкульозі застосовують такі речовини як фоносмолін, який у 8 %-й емульсії знищує туберкульозних мікробів у ґрунті на глибині до 5 см через 24-48 год. 0,5%-й розчин естостерилу знищує цих мікробів уже через 30 хв. Ефективними виявилися також 0,5%-і розчини парасоду, фоспару й метафору.

Патогенність збудника туберкульозу надзвичайно велика. Найбільш чутливі до захворювання мавпи, морські свинки, велика рогата худоба, кролі, деякі інші тварини та люди. До резистентних тварин відносять буйволів, кіз, віслюків, собак і коней. Деякі види тварин можуть бути чутливими до одного і навіть трьох видів збудника. Наприклад, морські свинки, мавпи чутливі до мікобактерій людського і бичачого видів, а кролі – бичачого та пташиного.

Діагностика. Застосовують бактеріологічний, серологічний та алергічний методи діагностики туберкульозу.

Бактеріологічний метод передбачає проведення бактеріоскопії, виділення чистої культури збудника і постановку біопроби.

Для прижиттєвої діагностики від тварин відбирають проби молока, бронхіального слизу, фекалій. Після загибелі або забою беруть шматочки печінки, селезінки, легень і лімфатичні вузли. При наявності змін в органах відбирають ділянки з свіжими туберкулами. Матеріал в лабораторію пересилають у термосах з льодом або консервують 30 %-м стерильним водним розчином гліцерину.

Культуральний метод передбачає виділення чистої культури збудника. При цьому особливого значення надають передпосівній обробці матеріалу, мета якої – знищення сторонньої мікрофлори. Практичне застосування знайшли методи Гона, Левенштейна, Суміюші, Алікаєвої та ін.

Після одержання культур беруть до уваги такі показники, як час появи первинного росту, його інтенсивність, характер колоній (величина, форма, колір, консистенція), тинкторіальні властивості та морфологію бактерій у препаратах. Додатково визначають здатність виділеної культури зумовлювати сенсibiliзацію, наявність якої визначають за позитивною реакцією на туберкулін у тварин, яким попередньо ввели що культуру,

Для визначення виду виділеної культури ставлять біопробу на морських свинках, кролях і курях.

Атипові мікобактерії. При патологічних процесах, подібних до туберкульозу, від людей і тварин у ряді випадків виділяють мікобактерії, за морфологічними і тинкторіальними властивостями ідентичні збуднику туберкульозу, проте не схожі на нього за культуральними, біохімічними та вірулентними характеристиками. Такі мікобактерії названі атиповими. Значення їх у патології остаточно не з'ясоване. Встановлено, що вони є основною причиною виникнення неспецифічних алергічних реакцій у великої рогатої худоби, їх виділяють у середньому від 20 % здорових тварин, причому 75 % ізолятів припадає на *M. avium-complex* (B. Donald).

Алергічний метод діагностики ґрунтується на туберкуліновій пробі, суть якої полягає у тому, що у заражених туберкульозом тварин розвивається стан підвищеної чутливості до продуктів життєдіяльності збудника (сенсibiliзація) і на введений алерген їх організм відповідає гіперемічною реакцією.

Тривалий час для алергічної проби застосовували старий туберкулін Коха. Нині випускають очищені ППД туберкуліни для ссавців і птахів окремо, а також комплексний алерген із атипових мікобактерій (КАМ).

Серологічний метод застосовують як додатковий для прижиттєвої діагностики туберкульозу. Він ґрунтується на постановці реакції зв'язування комплементу (РЗК) з комплексним туберкульозним антигеном, розробленим в колишньому Українському НДІ експериментальної ветеринарії. Якщо в сироватці крові великої рогатої худоби виявлено антитіла в титрах 1 : 20 і вище, то таких тварин забивають для проведення бактеріологічних і патолого-анатомічних досліджень.

В Україні запропоновано діагностичну тест – систему на основі ІФА ДІАТUB – VI для визначення протитуберкульозних антитіл у сироватках крові великої рогатої худоби.

Імунітет при туберкульозі нестерильний і забезпечується Т-лімфоцитами. Повного

Для профілактики туберкульозу в медицині широко застосовують вакцину Кальметта і Герена,

яку скорочено позначають BCG (Bacterium Calmett – Guerin). Дослідники культивували штам *M. bovis* на картоплі з гліцерином в присутності жовчі. У результаті 230 пересівів протягом 13 років і негативного впливу жовчі штам повністю втратив патогенність для людей і тварин. У ветеринарній медицині цю вакцину поки що широко не застосовують, оскільки вона не гарантує створення належного імунітету, а щеплені тварини через деякий час починають позитивно реагувати на туберкулін.

Для лікування хворих на туберкульоз людей застосовують стрептоміцин, тубазид, фтивазид в поєднанні з дієтотерапією. У ветеринарній практиці хворих тварин не лікують через економічну недоцільність, а відправляють на забій.

Тема лекційного заняття 5. Лабораторна діагностика псевдотуберкульозу, антропоознозної чуми.

Тема лекційного заняття 6. Лабораторна діагностика лептоспірозу.

Збудник лептоспірозу (*Spirocheta interrogans*)

Лептоспіроз – інфекційне захворювання теплокровних тварин і людини, яке характеризується хвилеподібною гарячкою, жовтяницею, гемоглобінурією, некрозом слизових оболонок і шкіри, а також абортами.

Повідомлення про захворювання людей, що схоже з лептоспірозом, належить ще до середини XVIII століття. Природа хвороби залишалася невідомою і її називали або за місцевістю, де вона виникала, або у зв'язку з виконанням певних робіт (болотна, водяна, лучна гарячка, хвороба свинопасів і т. ін.). Подібне захворювання у Росії описав К. Зейдліц (1841), а детально його охарактеризував Вейль (1886), на честь якого його назвали «хворобою Вейля». Майже одночасно з Вейлем, але незалежно від нього, водяна гарячка була описана Н. П. Васильєвим.

В 1914 р. японці Інадо, Ідо та інші виділили із крові людини, яка хворіла на інфекційну жовтяницю, спірохету і в умовах експерименту відтворили захворювання на морських свинках. Збудника назвали *Spirocheta icterohaemorrhagiae*. Подібну спірохету німецькі дослідники Уленгут і Фромме назвали *Spirocheta interrogans* і *Spirocheta nodosa*. Ногуші в 1917 р. об'єднав відомі спірохети у самостійний рід *Leptospira* (гр. *лептос* – дрібний і *спіра* – завиток), а захворювання, яке вони викликали, назвали лептоспірозом. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 2 «Аеробні (мікроаерофільні, рухомі, спіральні) вигнуті грамнегативні бактерії».

Значний вклад у вивчення цієї інфекції внесли М. В. Земсков, В. І. Терських, С. Я. Любашенко та ін.

Збудником лептоспірозу є *L. interrogans*, куди відносять паразитичні лептоспіри, які живуть і розмножуються в організмі тварин. Крім того, існує група *L. biflexa*, яка об'єднує, вільноживучі, непатогенні лептоспіри, що зустрічаються у зовнішньому середовищі, переважно в мілких водоймах і вологих ґрунтах.

Патогенні лептоспіри включають 124 серологічні типи, об'єднаних у 18 серологічних груп. У ветеринарній патології найбільше значення мають представники таких серогруп: *Icterohaemorrhagiae* (13 сероваріантів), *Canicola* (10 сероваріантів), *Pomona* (4 сероваріанти), *Hebdomadis* (16 сероваріантів), *Tarassovi* (7 сероваріантів).

Морфологія. Лептоспіри належать до звивистих мікроорганізмів і мають вигляд довгих гвинтоподібно закручених спіралей. Середня їх довжина 7-14 мкм, проте зустрічаються клітини довжиною 30 мкм і більше або короткі (3-4 мкм) індивідууми. Ширина клітини 0,06-0,15 мкм. Лептоспіри мають центральну осьову нитку, навколо якої гвинтоподібно намотана цитоплазма. Кінці у лептоспір загнуті у вигляді гачків і мають характерні потовщення. За рахунок скорочення осьової нитки лептоспіри інтенсивно рухаються. У них відсутні спори й капсули, фарбуються на Грамом негативно.

Для субмікроскопічної будови лептоспір характерні три основних компоненти: зовнішній покрив, осьова нитка та цитоплазматичний циліндр. Зовнішній покрив (оболонка) являє собою тришарову мембрану, в якій може бути додатковий шар, що в цілому нагадує клітинну стінку грамнегативних бактерій. Цитоплазма представлена дрібногранулярним матеріалом, у якому розміщуються різної величини електроннопрозорі або електроннощільні включення переважно полісахаридної природи. У складі включень виявлено глікоген, волутин, поліфосфати та інші сполуки. Нуклеоїди у вигляді компактного клубка також локалізуються у цитоплазмі.

Звичайні анілінові фарби лептоспіри сприймають погано, у зв'язку з чим застосовують спеціальні методи фарбування: обробку сріблом за Левадіті, тривале фарбування за Романовським -

Гімза, обробку флуорохромами.

Культуральні властивості. У лептоспір спостерігається низька здатність до розмноження у живильних середовищах і в 1 мл рідини їх нагромаджується у десятки разів менше, ніж інших мікробів. Для культивування лептоспір використовують елективні живильні середовища, які готують на основі звичайної води або краще фосфатного буфера (рН 7,2-7,4), куди додають 5-10% інактивованої сироватки кроля чи барана. Суміш фільтрують через пластину «СФ» фільтра Зейтца. Застосовують також середовище Ферворта – Вольфа у модифікації С. І. Тарасова, до складу якого входять ще й хлористий натрій і пептон Діфко.

Засіяні пробірки культують в аеробних умовах при температурі 28- 30° С протягом 3 міс. Кращі результати одержують при культивуванні цих мікробів в мікроаерофільних умовах при зниженій концентрації кисню. Середовище візуально не змінюється навіть у випадку розмноження лептоспір, тому періодично краплю середовища перевіряють на наявність лептоспір шляхом темнопольної мікроскопії. У більшості випадків ці мікроби виростають на 7-20-й, інколи на 3-5-й день або через 1-3 міс.

Біохімічні властивості лептоспір вивчені недостатньо. Ці мікроби ферментують ряд вуглеводів частіше до кислоти, інколи – до кислоти й газу. Із кров'яної сироватки, яку додають до живильного середовища, лептоспіри засвоюють жирні кислоти, амінокислоти, пуринові й піримідинові основи, вітаміни та солі.

Резистентність лептоспір проти впливу фізико-хімічних факторів невисока. В крові, нагрітій до 50-55 °С, лептоспіри гинуть через 30 хв., у культурах в цих же умовах – при 45-50 °С, у воді – при 4 °С. Нагрівання збудника до 60 °С інактивує його вже через 10 с; досить швидко він гине при висушуванні. У воді мілких водойм лептоспіри виживають до 10 діб, у верхніх шарах чистої води зберігаються до 22 діб, в сухому стерильному ґрунті – не більше 1,5 год., у вологому – до трьох, у дуже вологому – до 193 діб. У сечі залежно від її фізико-хімічних властивостей залишаються живими від кількох годин до кількох діб. Лептоспіри досить чутливі до кислот і лугів. При внесенні в живильне середовище кислоти, в розбавленні 1:1000 у співвідношенні 1 : 1 лептоспіри гинуть через 10-15 хв. 1 %-й розчин їдкового натру знищує цих мікробів майже миттєво. 3-10 %-і розчини жовчі великої рогатої худоби вбивають лептоспір через 30-60 хв., шлунковий сік – через 5 хв. В продуктах харчування щільної консистенції з кислою реакцією виживають кілька годин, а в рідких слаболужних – до кількох діб. У свіжому молоці вони зберігаються від 8 до 24 год, в кип'яченому або пастеризованому – до 48, в різних соках – від 1 до 24 год.

Антигенна структура. Між існуючими сероваріантами лептоспір не існує морфологічних і культуральних відмінностей і різняться вони між собою лише за антигенною будовою. У складі клітин лептоспір виявлено щонайменше два антигени: родоспецифічний гемолітичний антиген і типоспецифічний аглютинін. В усіх виділених серологічно активних фракціях знаходяться вуглеводи, в клітинах різних сероваріантів – також високоспецифічні преципітиногени й гемолітичний антиген. У культуральній рідині виявлено розчинний гемолізін. В антигенній будові лептоспір особливе значення мають аглютиногени, на основі яких диференціюють майже усі лептоспіри.

Патогенність. В природних умовах лептоспіри уражують значну кількість видів тварин і птиці. Високу чутливість до лептоспірозу проявляють велика рогата худоба, вівці, свині, промислові тварини, менш чутливі коні, віслюки, олені, коти, собаки, кури, гризуни.

Факторами патогенності у лептоспір є розчинний гемолізін, а також ліпаза й лецитиназа, які виділяє збудник. Достатніх доводів про можливість лептоспір продукувати екзотоксини немає, проте на організм впливають ендотоксини, які звільняються після розпаду клітин збудника.

В організм лептоспіри проникають через ушкоджені шкіру й слизові оболонки, а у свиноматок – ще і через піхву. Після нетривалого, періоду розмноження у тканинах настає лептоспіремія, кількість збудника в крові досягає максимуму і він продовжує розмножуватися у печінці, селезінці, наднирниках та інших органах.

Ураження печінки й інтенсивний розпад еритроцитів є основною причиною жовтяниці. Білірубін, що при цьому утворюється, затримується тканинами і забарвлює їх у жовтий колір. Супроводжується лептоспіроз глибоким порушенням азотистого, вуглеводного та мінерального обмінів.

Діагностику лептоспірозу здійснюють на підставі даних бактеріологічного, молекулярно-генетичного (ПЛР), серологічного і гістологічного методів досліджень з урахуванням епізоотологічних, клінічних та патологоанатомічних показників.

Бактеріологічна діагностика передбачає виявлення лептоспір у досліджуваному матеріалі за допомогою мікроскопії в темному полі або виділення культури збудника і постановки біопробі.

Для прижиттєвої діагностики від хворих тварин відбирають кров і сечу в період гарячки не пізніше сьомого дня від початку хвороби. Для серологічних досліджень кров беруть не раніше ніж за 5-7 днів після проявлення клінічних ознак.

Важливим підтвердженням діагнозу є виділення лептоспир шляхом висіву із патологічного матеріалу в елективні живильні середовища. Для підтвердження вірулентності виділених культур ставлять **біопробу** на золотистих хом'яках, кролятах, морських свинках, цуценятах, кошенятах і деяких інших тваринах. У практичних умовах найчастіше заражають золотистих хом'яків 20-30-денного віку й кролят 10-20-денного віку.

Серологічна діагностика лептоспірозу ґрунтується на дослідженні кров'яної сироватки в реакціях мікроаглютинації (РМА) або макроаглютинації (РА) та ІФА. Проби крові відбирають на 5-7-й день від початку хвороби і повторно – на 12-17-й день. Придатні проби свіжої, консервованої фенолом чи борною кислотою або висушеної сироватки. В реакції мікроаглютинації як антиген використовують молоді (5-15-денного віку) культури лептоспир найбільш поширених серогруп.

Запропоновані також РЗК, РНГА, реакцію латекс-аглютинації. Проте найбільш широко в лабораторній практиці застосовується ІФА. В Україні розроблено тест-систему DIA – *Leptospirosis-V* (тест-система для визначення антитіл класу IgG до патогенних штамів *Leptospira icterohaemorrhagiae* в сироватці крові великої рогатої худоби).

Імунітет. У перехворілих тварин розвивається тривалий достатньо напружений імунітет, який забезпечується переважно гуморальними факторами. В крові нагромаджуються аглютиніни, лізини, преципітини, комплементзв'язуючі антитіла, гемаглютиніни, гемолізини, причому титри деяких видів антитіл можуть бути високими (наприклад, концентрація аглютининів досягає до 1:10000). Гуморальний імунітет підкріплюється клітинним. Лептоспери з адсорбованими на них антитілами захоплюються різними клітинами, які виконують функцію фагоцитів. Частина тварин після перенесення інфекції залишаються лептоспіроносіями.

Активний імунітет проти лептоспірозу створюється штучно шляхом застосування депонованої полівалентної вакцини ВГНКІ. Для забезпечення відповідної концентрації антигенів вакцину випускають у двох варіантах: до першого входять антигени серогруп помона, тарасові, іктерогеморагія і канікола. В другому варіанті вакцини використано антигени серогруп помона, тарасові, грипотифоза, гебдомадис. Імунітет настає через 14-20 днів після вакцинації залежно від віку тварин і триває від 6 до 12 міс.

Для лікування хворих тварин і створення пасивного імунітету застосовують сироватку, яку одержують гіперімунізацією волів основними групами лептоспир. Застосовують також стрептоміцин.

Тема лекційного заняття 7. Лабораторна діагностика пастерельозу.

Пастерельоз (геморагічна септицемія, холера курей) – інфекційна хвороба багатьох видів домашніх і диких тварин. Захворювання характеризується ознаками септицемії, геморагічним запаленням серозних та слизових оболонок, нерідко запаленням легень, шлунково-кишкового тракту, суглобів.

Збудник – *Pasteurella multocida* (зрідка *Pasteurella haemolytica*) належить до роду *Pasteurella* з родини *Pasteurellaceae*. У визначнику бактерій Берджі пастерели включені до третьої підгрупи Групи 5 «Факультативно анаеробні грамнегативні палички».

Вперше Л. Пастер у 1879 р. виявив збудника холери курей, назвавши його *Bact. bipolaris septicum*. Пізніше подібні мікроорганізми були виділені від великої рогатої худоби, свиней, овець, кролів та інших видів тварин, які одержали відповідно назви *Bact. bipolaris bovis septicum*, *Bact. bipolaris suis septicum*, *Bact. bipolaris ovisepticum*, *Bact. bipolaris caprisepticum*, *Bact. bipolaris cynicilisepticum*. Вважалося, що для кожного виду тварин існує відповідний збудник пастерельозу. При подальшому вивченні згаданих мікроорганізмів було встановлено надзвичайну їх подібність. На честь Л.Пастера мікроорганізми назвали пастерелами, запровадивши у мікробіології відповідний рід та родину. Основним збудником пастерел вважається *Pasteurella multocida*. У той же час нині описано ще біля 20 видів та підвидів пастерел, патогенність яких детально вивчається.

Морфологія. *Pasteurella multocida* – коротка еліпсоподібна паличка 1,0 – 2,0 мкм довжиною та 0,3-1,0 мкм діаметром. У мазках від хворої птиці частіше мікробні клітини овоїдної (яйцеподібної) форми. В мазках, зроблених з культур – кокоподібні, інколи паличкоподібні. Пастерели нерухливі, спор не утворюють. Можуть утворювати мікрокапсулу. Грамнегативні. Фарбуються біполярно: інтенсивно на полюсах та ледь помітно у центральній частині. Біполярність найбільш виражена в мазках, пофарбованих метиленовою синькою або ж фарбою Романовського-Гімза.

Культуральні властивості. Хемоорганотроф. Характеризується як дихальним так і бродильним типами метаболізму. Факультативний анаероб. Оптимальна для розвитку температура 37-38 °С. Проте може рости й при кімнатній температурі. Оптимальний показник рН 7,2-7,4. Росте на звичайних живильних середовищах. Інтенсивність росту помітно зростає при внесенні кров'яної сироватки. На МПА утворює дрібні випуклі прозорі безбарвні флуоресціюючі колонії S-форми. Інколи збудник формує крупніші слизистої консистенції (М-форма) або ж з нерівними краями та шорсткою поверхнею (R-форма) колонії. В МПБ пастерели зумовлюють незначну каламуть і утворюють осад.

Біохімічні властивості. Мікроб ферментує ряд цукрів, утворює індол, H₂S, каталазу, желатин не розріджує, гемолізу на кров'янім агарі не викликає. Вивчення біохімічних ознак дає змогу диференціювати *Pasteurella multocida* від інших видів пастерел. Нижче наведено біохімічні властивості окремих видів роду *Pasteurella* (табл.8.2).

Антигенна структура. *Pasteurella multocida* має соматичний (O) та капсульний (K) антигени. За хімічним складом K-антигени є глікопротеїнами.

Резистентність. *Pasteurella multocida* може виживати у трупах тварин до 4 міс, у гною, воді — до трьох тижнів, у ґрунті – до 1 міс. Збудник досить чутливий до висушування. При 70-90 °С гине за 5-10 хв, при кип'ятінні – миттєво. Прямі сонячні промені вбивають його за кілька хвилин. Розчини фенолу, крезолу, хлорного вапна, гідроксиду натрію в загальновідомих для дезінфекції концентраціях знешкоджують збудник за кілька хвилин.

Патогенність. У природі циркулюють штами пастерел з різною вірулентністю. Остання досить лабільна, може змінюватися у той чи інший бік. Зокрема, при культивуванні на штучних живильних середовищах вона зменшується і, навпаки, помітно зростає у процесі пасажування на чутливих, особливо з ослабленою резистентністю, тваринах.

Pasteurella multocida екзотоксинів не продукує. Основними факторами її патогенності є ендотоксини та капсулоутворення. Збудник патогенний для всіх видів домашніх та диких ссавців, птахів, а також людини. Штами пастерел закономірно більш патогенні для видів тварин з матеріалів яких вони були виділені. Серед лабораторних тварин найбільш чутливі білі миші, кролі і голуби.

Діагностика ґрунтується на виділенні збудника та вивченні його властивостей. Матеріалом для дослідження є трупи дрібних тварин, уражені ділянки паренхіматозних органів, кров з серця, трубчаста кістка. Для виділення збудника використовують лише свіжий патологічний матеріал, відібраний від кількох трупів. В період лихоманки пастерели вдається виділити також з проб крові хворих тварин.

Мазки фарбують за Грамом, синькою Леффлера або ж за Романовським-Гімза. У позитивних випадках спостерігають характерні біполярно пофарбовані кокоподібні (овоподібні) палички. Для виділення збудника здійснюють посіви з внутрішніх органів, лімфатичних вузлів, крові, трубчастої кістки, мозку на збагачені (містять 5 – 10 % крові чи сироватки крові вівці або коня) МПА та МПБ, інкубують протягом 24-48 год. Ідентифікацію збудника здійснюють на основі детального вивчення морфологічних, культуральних, ферментативних та, при можливості, і серологічних властивостей. Слід пам'ятати, що в мазках з культури пастерели кокоподібні, значно відрізняються від тих, що спостерігаються в мазках, зроблених з патологічного матеріалу.

Біологічне дослідження проводять на білих мишах або ж кролях. Заражають їх суспензією з патологічного матеріалу або ж виділеною культурою. Білим мишам вводять підшкірно 0,2 мл, кролям – 0,5 мл матеріалу. Важливо пам'ятати про можливе бактеріоносійство у кролів. Для біопробу можна використовувати лише клінічно здорових, вільних від пастерел, тварин. При наявності збудника у досліджуваному матеріалі заражені тварини гинуть через 18-36 год. При діагностиці пастерельозу (холери) курей біопробу ставлять на голубах або ж 90-120-добових курчатах. 0,5 мл бульйонної культури збудника вводять внутрішньом'язово.

Бактеріологічне дослідження вважають позитивним, якщо з патологічного матеріалу виділено вірулентний для лабораторної тварини штамп пастерел. Однак для остаточного діагнозу захворювання необхідно проаналізувати клініко-епізоотологічні дані, результати патологоанатомічного розтину. Завжди слід пам'ятати про широку циркуляцію пастерел у природі та можливість змішаних інфекцій.

Імунітет. Тварини, які перехворіли на пастерельоз, набувають імунітету. Проте імунітет нестерильний. Штучний імунітет можна створити за допомогою живих та інактивованих вакцин, сироватки. Можливість створення штучного імунітету у птиці була доведена ще Л. Пастером (1890). Нині використовують: преципітовані формолвакцину проти пастерельозу сільськогосподарських тварин, напіврідку гідроокисалюмінієву формолвакцину проти пастерельозу великої рогатої худоби та буйволів, емульговану (масляно-ад'ювантну) вакцину проти пастерельозу великої рогатої худоби, емульговану (масляно-ад'ювантну) вакцину проти пастерельозу птиці, емульсин-вакцину проти

пастерельозу курей та індиків, суху авірулентну вакцину, вакцину з штамів колишньої Краснодарської НДВС (штами К та АВ).

Найбільш широко використовують емульговані препарати у зв'язку з їх високою імуногенністю та нешкідливістю. Широкого застосування набули, зокрема, емульгована вакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби та овець і аналогічна вакцина проти пастерельозу свиней. Для приготування першої використовують вірулентні штами пастерел, виділені від великої рогатої худоби, буйволів і овець. Вакцинні штами характеризуються широким спектром імуногенності. їх зберігають у ліофілізованому стані і періодично пасажують через організм відповідних видів тварин. Справа в тому, що лише вірулентні штами, які утворюють капсули, достатньо імуногенні.

В Україні біофабрики нині виробляють ряд інактивованих вакцин «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і овець, масляна», «Формолвакцина проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів і овець, ГОА напіврідка», «Формолвакцина проти пастерельозу овець і свиней, преципітована»,

«Бактерин-вакцина проти пастерельозу сільськогосподарської птиці, інактивована», «Вакцина проти пастерельозу качок і гусей, емульсована», «Вакцина проти пастерельозу птиці, сорбована, інактивована» та ін., а також зареєстровані препарати інших виробників, зокрема Німеччини («Talovac 108/FC» (вакцина проти пастерельозу птиці інактивована, антиген– інактивовані бактерії – *P. multocida*, серотип А-1) та Нідерланди («Nodilis FC inac» (вакцина проти пастерельозу птиці інактивована, містить антигени *P. multocida*, серотипів 1 – 5)). Використовуючи згадані вакцини, необхідно уважно аналізувати антигенний їх склад на предмет відповідності його антигенній характеристиці збудника пастерельозу в регіоні, у якому вони використовуються з метою специфічної профілактики хвороби. З метою профілактики пастерельозу серед птиці застосовують також живі вакцини, виготовлені з французьких авірулентних штамів збудника та із слабовірулентних штамів АВ і К. Живі вакцини з слабовірулентних штамів застосовують у неблагополучних щодо пастерельозу господарствах, у яких вирощують водоплаву птицю. Качок вакцинують з 1-місячного віку одноразово, а старших з 2-х місячного віку, препарат вводять два рази. Спочатку вводять вакцину з штаму АВ в синус голови в дозі 0,2 мл, а через сім днів – другу вакцину з штаму К у такій же дозі в протилежний синус. Живі вакцини можуть викликати ускладнення, тому застосовують їх дуже обережно. Забороняється, зокрема, вакцинувати хвору й ослаблену птицю. Гіперімунну сироватку проти пастерельозу великої рогатої худоби, буйволів, овець та свиней готують гіперімунізацією волів вірулентними й імуногенними штамми пастерел, спочатку інактивованими теплом, а потім живими.

Сироватку застосовують переважно з профілактичною метою, зокрема вводять її телятам, поросяткам та ягнятам у перші дні поставки тварин на тваринницькі комплекси. Телятам та поросяткам вводять по 10-30 мл, дорослим тваринам – по 30-40. Застосування гіперімунної сироватки з лікувальною метою ефективно лише на початку захворювання. Вводять її внутрішньом'язово або ж внутрішньовенно у подвійній профілактичній дозі.

Пастерели чутливі до гентаміцину, лівоміцетину, стрептоміцину та тетрацикліну.

Тема лекційного заняття 8 . Лабораторна діагностика патогенних коків.

Коки – широко поширені в природі кулясті бактерії. Переважна кількість шароподібних мікроорганізмів сапрофіти. Проте є і патогенні види. Останні викликають захворювання у людей та тварин. Патогенні коки належать до двох родів *Staphylococcus* та *Streptococcus*. Стафілококи

Стафілококи – сферичні грампозитивні нерухливі бактерії, які відносяться до роду *Staphylococcus* родини *Micrococceaceae*.

Стафілококи відкриті Пастером та А.Огетоном в 1880 році незалежно один від одного. Детальніше їх вивчив та описав Ф. Розенбах в 1884 році.

У 1976 році Міжнародним комітетом з токсеномії стафілококів офіційно затверджено три види: *S. aureus*, *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*.

Стафілококи мають важливе значення у інфекційній патології у людей та тварин, вони викликають фурункули, абсцеси, флегмони, остеомієліти, мастити, ендометрити, бронхіти, пневмонії, менінгіти, септицемію, ентероколіти, а також харчові токсикози.

Морфологія. Стафілококи мають кулясту форму діаметром 0,8 – 1,0 мкм, розміщуються різними за розміром скупченнями типу виноградного грона. В мазках із патологічного матеріалу розташовані по одинці, парами, короткими ланцюжками та невеликими скупченнями. Нерухливі, спор та капсул не утворюють. Добре фарбуються аніліновими фарбами, грампозитивні. У старих культурах окремі клітини фарбуються грамнегативно.

Культуральні властивості. Факультативні анаероби добре ростуть на простих середовищах у звичайних умовах. Додавання до поживних середовищ глюкози або крові прискорює ріст стафілококів. Характерна ознака більшості штамів – здатність рости за наявності 15% хлориду натрію або 40% жовчі. На МПА утворюють круглі випуклі колонії з рівними краями діаметром 2-5 мм. Утворюють пігмент. Найбільш інтенсивно пігменти синтезуються під час культивування стафілококів на агарі з 10% збірного молока (37 °С) і на картоплі при температурі 20-25 °С, в аеробних умовах на світлі. *S. aureus* синтезує золотистий або помаранчевий пігмент, проте зустрічаються і безпігментні штами, *S. epidermidis*, як правило синтезує білий або жовтий пігмент, у більшості штамів *S. saprophyticus* пігмент відсутній. Пігменти стафілококів із групи каротиноїдів не розчинні у воді, тому рідкі середовища залишаються безбарвними.

На МПБ стафілококи обумовлюють інтенсивне помутніння та утворення значної кількості осаду, який здатний перетворюватись у тягучу ослизлу масу.

Біохімічні властивості. Стафілококи ферментують з утворенням кислоти без газу: глюкозу, мальтозу, фруктозу, сахарозу, ксилозу, гліцерин, маніт і не розщеплюють дульцит, саліцин, інулін, крохмаль, зсідають молоко, пептонізують казеїн, розріджують желатин, утворюють сірководень, індол не продукують, відновлюють нітрати у нітрити; продукують каталазу, фосфатазу, уреазу; патогенні штами – аргіназу.

Токсиноутворення. Патогенні стафілококи синтезують високоактивні екзотоксини та ферменти. Серед екзотоксинів розрізняють чотири типи гематоксинів (стафілолізинів), лейкоцидин і ентеротоксини. До гематоксинів відносяться альфа, бета -, гамма - , і дельта - гемолізину.

Лейкоцидин негемолітичний екзотоксин, викликає дегрануляцію і руйнує лейкоцити.

Ентеротоксини – термостабільні поліпептиди, утворюються при розмноженні ентеротоксигенних стафілококів у поживних середовищах, харчових продуктах (молоко, сир та ін.), кишечнику. Стійкі до дії шлункових ферментів. Ентеротоксини викликають харчові токсикози переважно у людини. До них чутливі також тварини (коти, собаки).

До факторів патогенності стафілококів відносять також ферменти (коагулазу, гіалуронидазу, фібринолізин, ДНК-азу, лецитиназу та ін.)

Антигенна структура. У стафілококів вивчені антигени клітинної стінки: пептидоглікан, тейхоєві кислоти та білок А. Пептидоглікан загальний видовий для стафілококів антиген. Тейхоєві кислоти – видоспецифічні полісахаридні антигени. *S. aureus* містить рибитолтейхоєву кислоту (полісахарид А), *S. epidermidis* – гліцеринтейхоєву кислоту (полісахарид В.). Протеїн А виявлений у золотистого стафілокока. Це низькомолекулярний білок, має властивості з'єднуватися з Fc – фрагментами IgG ссавців. Штами, які інтенсивно продукують білок А, надзвичайно резистентні до фагоцитозу.

Резистентність. Стафілококи відносно стійкі мікроорганізми. Прямі сонячні промені вбивають їх протягом декількох годин. У пилу стафілококи зберігаються 50-100 днів, добре переносять висушування. У гною можуть виживати до 200 днів.

У рідких середовищах при нагріванні до 70-80 °С гинуть через 20-30 хв., при 100 °С – за кілька секунд, сухий жар вбиває їх протягом 2 годин.

Формалін 1%-й та 2%-й розчин гідроксиду натрію інактивують стафілококи протягом 1 години, 1%-й розчин хлораміну – через 2-5 хв. Абсолютний алкоголь не діє на стафілококи, проте 50%-й його розчин знищує їх через 10 хв. Стафілококи чутливі до ряду фарбників, зокрема кристалічного фіолетового, малахітового зеленого та інших.

Стафілококи чутливі до бензинпеніциліну, напівсинтетичним пеніцилінам, стрептоміцину, левоміцетину, тетрацикліну і до інших антибіотиків, а також нітрофуранових препаратів. Проте зустрічаються штами, які проявляють резистентність до 5-10 і більше антибіотиків.

Патогенність. Основна роль у інфекційній патології тварин та людини належить до *S. aureus*. Збудники стафілококової інфекції можуть бути також *S. epidermidis* та *S. saprophyticus*. Основними факторами патогенності стафілококів – є здатність їх продукувати екзотоксини та ферменти коагулазу, фібринолізин і гіалуронидазу. Пігментоутворення та розщеплення вуглеводів не можуть бути критерієм патогенності стафілококів.

До стафілококів чутливі коні, велика рогата худоба, дрібна рогата худоба, свині, качки, гуси, індики, кури, із лабораторних тварин – кролі, білі миші, котенята. При внутрішньошкірному введенні кролям культури патогенних стафілококів розвивається запалення, некроз шкіри, при внутрішньовенному введенні фільтрату культури у кролів настає інтоксикація і загибель тварини через кілька хвилин.

В організм стафілококи проникають через пошкоджену шкіру та слизові оболонки, ентеротоксини аліментарним шляхом.

Лабораторна діагностика. Для дослідження в лабораторію надсилають гнійний ексудат ран, проби молока які відбирають від корів з гнійно-катаральними маститами, гній фурункулів, абсцесів, флегмон, виділення з статевих органів при ендометриті, кров з яремної вени при септицемії.

Імунітет. У здорових тварин є природна резистентність до стафілококової інфекції. Вона обумовлена бар'єрною функцією шкіри, слизових оболонок фагоцитозом і наявністю специфічних факторів імунітету субімунізуючою інфекцією.

Імунітет при стафілококових інфекціях антитоксичний, малонапружений і нетривалий. Тому не виключені рецидиви, але високі титри антитоксинів у крові тварин підвищують їх стійкість до захворювань. Антитоксини не лише нейтралізують екзотоксини, але і обумовлюють швидку мобілізацію фагоцитів. Для створення штучного імунітету готують стафілококовий анатоксин додаванням до токсину 0,3% формаліну і витриманням у термостаті при 37 °С протягом 28 днів.

Анатоксин одержують гіперімунізацією тварин стафілококовим анатоксином і застосовують для створення пасивного імунітету. Ефективнішим у цьому відношенні є протистафілококовий гамма-глобулін. Готують інколи аутовакцину – прогріту при 70-75 °С змив агарової культури стафілокока, виділеною з матеріалів отриманих від хворої тварини.

Стрептококи

Стрептококи (*Streptococcus*) вперше виявили в 1869 році Чозе і Фельтц у крові жінок, які хворіли на післяродову гарячку. У 1874 році Білрот виявив стрептококи в гнійному ексудаті при бешиховому запаленні. Л. Пастер 1879 році і А. Огстон в 1881 році описали при сепсисі чисту культуру стрептококів виділяли Ф. Фелейзен (1883 р.) і А. Розенбах (1884 р.).

Патогенні стрептококи у тварин і людини заселяють шкіру та слизові оболонки, проявляють патогенність при зниженні резистентності організму тварин.

У ветеринарній патології стрептококам належить важливе місце як збудникам специфічних маститів у корів, миту у однокопитних, вони ускладнюють перебіг катаральних процесів до гнійно-катаральних, особливо при ендометритах у корів, є збудниками секундарної інфекції при деяких вірусних і бактеріальних хворобах. У багатьох видів тварин і птиці викликають септичне захворювання – *стрептококоз*.

Збудник стрептококозу належить до роду *Streptococcus* і нараховує 17 серологічних груп які позначаються великими літерами латинського алфавіту.

За гемолітичною активністю стрептококи поділяють на три групи.

1. *Альфа-стрептококи* – утворюють зону позеленіння навколо колоній. Істинний гемоліз відсутній, зелена зона утворюється завдяки гемоглобіну без розпаду еритроцитів (гемометоморфоз).
2. *Бета-стрептококи* – викликають звичайний гемоліз із зоною просвітлення навколо колоній.
3. *Гамма-стрептококи* – не викликають гемолізу.

В інфекційній патології мають значення серогрупи А, В, С, Д, Е та F. Група А – збудники інфекцій у людини;

Група В – збудники маститу та урогенітальних інфекцій у корів;

Групи В, С, Д, Е – збудники інфекцій у різних видів тварин. Антигеном який дозволяє диференціювати стрептококи на серогрупи – полісахарид (С-речовина), що знаходиться у клітинній стінці стрептококів.

Патогенні стрептококи продукують екзотоксини. Гемолізін різної дії обумовлює руйнування еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, макрофагів; при внутрішньовенному введенні кролям викликає гемоглобінемію та гематурію. Лейкоцидин руйнує лейкоцити або пригнічує фагоцитарні властивості.

Летальний токсин (некротоксин) при внутрішньошкірному введенні викликає некроз шкіри. Патогенні стрептококи продукують ферменти гіалуронідазу, фібрінолізин, дезоксирибонуклеазу, рибонуклеазу, нейрамінідазу, протеазу, стрептокіназу, амілазу, ліпазу, а також термостабільні ендотоксини. Термостабільні ендотоксини – гемолізін інактивується при температурі 55 °С лейкоцидин при – 70 °С, протягом 30 хв. Фібринолізин не руйнується при кип'ятінні до 50 хв.

Збудник миту

Збудник миту – *Str. equi* – вперше виявлений Рівольтом у 1873 р. і описаний Шютцем в 1888р. Мит – контагіозна хвороба коней, переважно лошат (до двох років), хворіють також осли, мули, лошаки у віці від 6 міс. до 3-5 р., характеризується катарально-гнійним запаленням носоглотки

слизових оболонок верхніх дихальних шляхів і ураженням заглоткових, підщелепних лімфатичних вузлів.

Морфологія. *Str. equi* грампозитивні коки, в мазках із гною довгі ланцюжки (по 25-100 і більше коків). У мазках із органів зустрічаються переважно диплококи і монококи. В мазках із агарової і бульйонної культури збудник має вигляд коротких ланцюжків. Діаметр клітин коливається у межах 0,5-1,0 мкм. Морфологічною особливістю збудника є те, що клітини в ланцюжках стиснуті з полюсів (мають вигляд зерна сечовиці). Збудник нерухливий, не утворює спор. Капсулу можна виявляти лише протягом перших 6-10 годин культивування, пізніше вона розпадається під впливом гіалуронідази, яку продукує сам мікроб.

Культуральні властивості. Для виділення чистої культури проводять посів на сироватко – глюкозний агар. Через 24 години на агарі митний стрептокок утворює дрібні, прозорі, сірувато-білі колонії-росинки.

Збудник росте в аеробних і анаеробних умовах. На кров'яному агарі формує дрібні колонії. Формує навколо колоній зону В-гемолізу. На сироватковому бульйоні і середовищі Кітт-Тарацці росте, утворюючи дрібні крупинки, які вистилають дно і стінки пробірки, бульйон залишається прозорим.

Біохімічні властивості. *Str. equi* ферментує до кислоти без газу сахарозу, мальтозу, глюкозу, галактозу і не ферментує лактозу, сорбіт, манніт. Антигенна структура *Str. equi* відноситься до серогрупи С. Збудник містить полісахарид С, синтезує екстрацелюлярні антигени (токсини), О-стрептолізин (білок) і S – стрептолізин (ліпідно-протеїновий комплекс).

Резистентність. Нагрівання до 70-75°C знищує збудник за 1 годину, кип'ятіння – миттєво. У гною зберігається до 6 міс. Прямі сонячні промені знищують мікроб протягом 6-8 годин, дезінфікуючі розчини – через 10-25 хвилин.

Патогенність. Стрептококи, які потрапили на слизову оболонку носа, лімфатичним шляхом досягають підщелепних лімфатичних вузлів, викликають запалення слизових оболонок – спочатку серозне, а потім слизово-гнійне. Якщо вхідними воротами інфекції була шкіра, виникають абсцеси, флегмони або сепсис; при внутрішньовенному введенні збудника розвивається смертельна піємія, при інтравагінальному – гнійний вагініт, але не мит.

Діагностика. В лабораторію направляють патологічний матеріал: пунктати із абсцесів лімфатичних вузлів, гній, ексудат, носові виділення. Після загибелі тварин відбирають шматочки печінки, селезінки, кров із серця, легені, гній з абсцесів лімфатичних вузлів.

Дослідження проводять за загальноприйнятою схемою: мікроскопія мазків, виділення чистої культури та постановка біопроби.

Імунітет. Тварини, які перехворіли на мит, набувають стійкий імунітет, практично пожиттєвий. Штучна імунізація не дає бажаних результатів. Для лікування миту застосовують антивірус який є фільтром 20-добової бульйонної культури *Str. equi*, виготовлений із місцевих штамів стрептококу. Хворим тваринам вводять препарат підшкірно в дозі 50-100 мл.

Збудники стрептококозу тварин

Стрептококоз – інфекційна хвороба багатьох видів тварин. Захворювання характеризується підвищенням температури, пригніченням, набряками, артритами, діареєю.

Збудники хвороби – *Streptococcus pyogenes*, *Str. mastitis*, *Str. disagalactiae*, *Str. pneumoniae* та інші.

Морфологія. Стрептококи мають кулясту, розміщуються ланцюжками різної довжини. Діаметр клітин 0,5 – 1 мкм, не рухливі, не утворюють спор, фарбуються позитивно за Грамом.

Стійкість. Добре переносить висушування. У гнійному ексудаті зберігається 2-3 міс. при нагріванні до 85 °С залишаються живими 30 хв. Заморожування їх консервує 3%-й розчин гідрохлориду натрію, 1%-й формалін знищує стрептокок протягом 10-15 хв.

Патогенез. Патогенність стрептокока у багатьох відношеннях пояснюється їх здатністю виділяти ряд екзотоксинів і ферментів (еритротоксин, гемолізін, некротоксин, лейкоцидин, фібринолізин, гіалуронідаза), які мають значення при розвитку запального процесу в місцях вторгнення мікроба в організм. Запалення із катарального переходить в гнійне, чим пояснюється, зокрема виникнення гнійно-катаральних маститів.

Діагностика. В лабораторію для дослідження надсилають молоко із ураженої частки вим'я.

Імунітет. Обумовлений антитоксичними та антибактеріальними факторами. Біопрепарати. Для лікування застосовують антибіотики та сульфаніламідні препарати.

Збудник диплококової інфекції (Streptococcus)

Стрептококова септицемія, диплококова пневмонія – бактеріальна хвороба молодяку, характеризується септицемією, ураженням печінки, суглобів, пуповинного канатика і кишковика *Str.*

pneumoniae був виділений в 1871 р. Л.Пастером із слини дитини померлої від сказу. Чисту культуру пневмокока одержали у 1886р. Френкель і Вексельбаум, які встановили роль пневмокока в етіології крупозної пневмонії.

Збудник захворювання відноситься до родини Streptococcaceae, роду Streptococcus і представлений 40 видами. У новонароджених пуповину інфекцію викликає гемолітичний *Str. zooepidermicus* групи C, стрептококову пневмонію телят і поросят – *Str. pneumoniae* (*Diplococcus lanceolatus*), лімфаденіти, артрити і абсцеси у тканинах *різні групи стрептококів (C, D, E та L)*.

Морфологія. В мазках із патологічного матеріалу стрептококи овальної форми і розташовані попарно або короткими ланцюжками. При хронічних процесах клітини мають форму диплострептокока. Розмір клітин 0,8 – 1,25 мкм. Нерухливі, спор не утворюють. В організмі та поживних середовищах із сироватки крові або кров'ю пневмококи утворюють капсулу.

Культуральні властивості. Пневмококи ростуть в аеробних і анаеробних умовах при 36-38⁰С. На МПА утворюють дрібні, прозорі колонії з блакитним відтінком, на МПБ – помутніння; на сироватковому агарі дрібні прозорі колонії у вигляді краплі роси; на кров'яному агарі дрібні колонії із зоною гемолізу (зелена зона).

Біохімічні властивості. Ферментують до кислоти глюкозу, лактозу, сахарозу, манніт; неферментують арабінозу і дульцит, не утворюють пігмент та індолу.

Антигенна структура. У пневмокока виявлено нуклеопротейновий антиген який розташований у цитоплазмі клітини. Ближче до поверхні клітини знаходиться видоспецифічний соматичний полісахаридний С-антиген. На поверхні цитоплазми знаходиться типоспецифічний протеїновий М-антиген.

Str. pneumoniae має 84 серовари, що аглютинуються лише відповідними специфічними сироватками.

Резистентність. У зовнішньому середовищі залишаються живими протягом 3-4 тижнів. При нагріванні до 70 °С гинуть через 1 годину, в молоці через 30 хв. при температурі 85 °С. Добре переносять висушування, тривалий час зберігаються в гною. Заморожування їх консервує. Робочі розчини дезінфікуючих речовин, особливо формаліну, їдкою натру знищують пневмокока через 10-15 хв.

Патогенність. Найбільш чутливі до пневмокока білі миші і кролі. Патогенні пневмококи для великої рогатої худоби і дрібної рогатої худоби, собак, шурів.

Імунітет. Біопрепарати. Для специфічної профілактики диплококової інфекції застосовують напіврідку формолвакцину, протидиплококову сироватку, полівалентну формолвакцину проти сальмонельозу, пастерельозу та диплококозу поросят.

При лікуванні хворих тварин застосовують антибіотики широкого спектру і сульфаніламідні препарати.

Змістовний модуль 2. ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ВІРОЗІВ ТВАРИН

Тема лекційного заняття 1. Лабораторна діагностика інфекційних хвороб тварин вірусної природи.

Діагностика має надзвичайно важливе значення в системі заходів боротьби з вірусними хворобами тварин. Швидко і правильно поставлений діагноз забезпечує успіх ліквідації спалахів захворювання, оскільки дає змогу чітко уявити конкретну епізоотичну ситуацію та своєчасно вжити цілеспрямованих заходів щодо оздоровлення поголів'я тварин із найменшими втратами. І навпаки, помилковий діагноз або затримка з його постановкою може призвести до поширення інфекції, ускладнить заходи щодо її ліквідації та спричинить значні економічні збитки.

Постановка діагнозу на вірусні хвороби тварин складається з двох етапів:

- 1) клініко-епізоотологічна діагностика;
- 2) лабораторна діагностика.

Клініко-епізоотологічна діагностика проводиться безпосередньо в господарстві на основі аналізу клінічних симптомів хвороби, патологоанатомічних змін органів і тканин та епізоотологічних даних (відомості про види і вікові групи захворілих тварин, швидкість і широту поширення інфекції, захворюваність і летальність тощо). Аналіз усіх цих даних дає змогу поставити лише попередній діагноз, оскільки при багатьох вірусних хворобах вони можуть бути подібними. Крім того, трапляються випадки атипичних і латентних форм перебігу захворювання, а також асоційованих (змішаних) інфекцій, які спричинюються кількома збудниками. Вирішальне значення в постановці остаточного діагнозу належить **лабораторній діагностиці**.

Навіть при такій хворобі, як ящур, коли клініко-епізоотологічний діагноз ставиться, як

правило, точно, обов'язково треба проводити лабораторні дослідження з метою встановлення типу і підтипу збудника, що необхідно для застосування відповідної вакцини. Лабораторна діагностика проводиться

в спеціалізованій лабораторії ветеринарної медицини на основі дослідження патологічного матеріалу від хворих і загиблих тварин.

Враховуючи попередній діагноз, складають план лабораторного дослідження патологічного матеріалу.

Сучасна вірусологія має широкий вибір різноманітних методів виявлення, культивування та ідентифікації вірусів, що дало змогу розшифрувати етіологію вірусних інфекцій тварин і людини. Проте не всі методи науково-дослідної роботи знайшли застосування в діагностичній практиці. Лабораторна діагностика може ґрунтуватися на таких із них, які не потребують унікального обладнання, регулярно відтворювані, забезпечені доступними реагентами і дають змогу оперативно дослідити велику кількість проб.

Лабораторна діагностика вірусних хвороб тварин складається з:

- 1) *експрес-методів*;
- 2) *вірусологічних методів*;
- 3) *методів серологічної (ретроспективної) діагностики*.

Вибір конкретного методу вирішується в кожному окремому випадку залежно від характеру захворювання, підозрюваного збудника і можливостей лабораторії.

Експрес-методи основані на швидкому виявленні вірусу або його компонентів безпосередньо в патологічному матеріалі. До цієї групи належать такі методи:

- 1) **виявлення віріонів вірусів методами світлової (вірусоскопія), електронної та імуноелектронної мікроскопії;**
- 2) **виявлення внутрішньоклітинних тілець-включень вірусів;**
- 3) **виявлення вірусних антигенів у серологічних реакціях: РІФ, ІФА, РІА, РЗК, РДП, РРІД, ЗІЕФ, РГА і РЗГА, РИГА, РЗНГА, РАЛ;**
- 4) **виявлення вірусних нуклеїнових кислот в полімеразній ланцюговій реакції.**

Експрес-методи дають змогу відносно швидко (не більше 2-3 діб) виявити та ідентифікувати вірус у дослідному матеріалі. Проте вони не завжди достовірні й тому потребують підтвердження іншими методами. Вірусологічні методи ґрунтуються на виділенні вірусу з патологічного матеріалу шляхом зараження чутливих біологічних об'єктів і його наступній ідентифікації в серологічних реакціях. Для виділення вірусу використовують лабораторних тварин, курячі ембріони і культури клітин.

При виборі біологічних систем враховують дані клініко-епізоотологічного діагнозу і вид тварини, від якої взято патологічний матеріал. Сукупність цих даних дає змогу вибрати потрібну лабораторну модель і метод її зараження. В окремих випадках ставлять біопробу (або імунологічну пробу) на природно сприйнятливих тваринах.

Досить часто трапляються випадки, коли при первинному зараженні дослідним матеріалом лабораторні об'єкти не реагують на вірус. Це зовсім не означає, що збудника немає. Відсутність реакції на зараження за наявності вірусу в патологічному матеріалі можна пояснити двома причинами:

- 1) недостатньою адаптацією вірусу до біологічної системи;
- 2) низькою концентрацією вірусу в патологічному матеріалі.

В такому разі перший пасаж вважають «сліпим». Від інфікованих біологічних об'єктів беруть відповідний вірусомісний матеріал і заражають ним нову партію лабораторних тварин, курячих ембріонів або культур клітин, тобто проводять другий пасаж. Якщо і в другому пасажі не виявиться реакція на вірус, його також вважають «сліпим» і проводять третій пасаж. З кожним пасажем вірус адаптується до біологічних систем, концентрація його збільшується, і він виявляє свою інфекційну дію. Зазвичай для ізоляції вірусу з патологічного матеріалу потрібно провести не менш як 3 — 4 «сліпих» пасажів.

Наступним етапом вірусологічного дослідження є ідентифікація виділеного вірусу в серологічних реакціях: РН, РІФ, ІФА, РІА, РЗК, РЗГА, РИГА, РЗНГА, РЗГАд, РДП, ЗІЕФ.

Окрім того, вірус ідентифікують методами ЕМ та ІЕМ. Вірусологічні методи в лабораторній діагностиці вірусних хвороб є найдостовірнішими, тому що їхня мета — ізоляція збудника з патологічного матеріалу і наступна його ідентифікація. Проте вони потребують багато часу, особливо в разі проведення «сліпих» пасажів.

Методи серологічної (ретроспективної) діагностики. Незалежно від результатів ізоляції вірусу з патологічного матеріалу і його ідентифікації, проводять дослідження парних сироваток крові

на наявність специфічних антитіл. З цією метою від тварини беруть кров двічі, з інтервалом 2-3 тижні, на початку і наприкінці хвороби. Зростання титру антитіл у другій пробі сироватки в чотири рази і більше свідчить про перенесену інфекцію.

Чому недостатньо одноразового серологічного дослідження? Справа в тому, що позитивний результат одноразового дослідження, навіть якщо титр антитіл високий, не має діагностичної цінності (за винятком ситуації, коли на певній території з'являється зовсім новий вірус). Наявність сироваткових антитіл може бути наслідком раніше перенесеної хвороби, безсимптомної інфекції або вакцинації.

Сироватки крові новонароджених і молодих тварин нерідко містять антитіла колострального походження. Позитивний результат одноразового серологічного дослідження свідчить про контакт тварини з вірусом, однак не визначає, коли саме він відбувся. Серологічні дослідження мають діагностичну цінність тоді, коли вони виявляють зростання титру антитіл.

Для дослідження сироваток крові використовують різні серологічні реакції: РН, РЗГА, РИГА, РАЛ, РНГАд, РЗК, РРГ, РДП, РРІД, ЗІЕФ, РНІФ, РІА, ІФА (в модифікації ELISA). Крім того, антитіла можна виявити методом ІЕМ.

Недоліком методів серологічної діагностики є їхня ретроспективність, тому що до моменту постановки діагнозу тварини перебувають на стадії видужування.

Тема лекційного заняття 2. Відбір клінічного і патологічного вірусомісного матеріалу.

1. Загальні вимоги до організації відбору клінічного і патологоанатомічного матеріалу для лабораторних досліджень.

У лабораторній діагностиці вірусних хвороб тварин точність діагнозу залежить передусім від правильного відбору патологічного матеріалу від хворих, загинувших або вимушено забитих тварин і швидкого транспортування його в лабораторію.

Загальне правило: патологічний матеріал потрібно брати по можливості *стерильно*, якнайшоріше після появи чітких клінічних ознак хвороби, коли концентрація вірусу є максимальною, або не пізніше 2-4 год після загибелі, щоб уникнути дисемінації кишкової мікрофлори (внаслідок послаблення бар'єрної функції кишківника) і посмертних змін тканин. Слід враховувати той факт, що при багатьох вірусних інфекціях (наприклад, хворобі Тешена) спостерігається феномен посмертної аутостерилізації, що робить неможливим виділення збудника.

Патологічний матеріал беруть з урахуванням тропізму вірусу і шляхів виділення його з організму в різні стадії хвороби. За тропізмом віруси поділяють на п'ять основних груп: *пневмотропні, нейротропні,*

дерматропні (епітеліотропні), повітропні та пантропи і.

При респіраторних інфекціях (грип свиней і коней, парагрип-3 ВРХ, РС-інфекція ВРХ) відбирають носовий слиз, носоглоткові змиви, слизові оболонки верхніх дихальних шляхів, легені, бронхіальні й середостінні лімфатичні вузли.

При нейроінфекціях (сказ, хвороба Тешена, східний, західний і венесуельський енцефаломієліти коней) направляють головний і спинний мозок.

При хворобах, які спричинюються дерматропними вірусами (віспа, ящур, везикулярний стоматит), відбирають стінки і вміст везикул, пустул, роблять зіскрібки з уражених ділянок шкіри і слизових оболонок.

При хворобах, що супроводжуються ураженням травного каналу (ротавірусний і корона вірусний ентерити ВРХ), направляють калові маси, слизову оболонку тонких кишківників, брижові лімфатичні вузли.

При інфекціях, спричинених політропними вірусами (наприклад, інфекційний ринотрахеїт ВРХ), відбирають патологічний матеріал залежно від клінічного прояву хвороби: змиви з носа, кон'юнктиви і статевих органів, сперма, абортований плід, слизові оболонки респіраторного і травного каналів, паренхіматозні органи, мигдалини, лімфатичні вузли, головний мозок.

Якщо підозрюється пантропний вірус (наприклад, хвороби Ауескі, чуми свиней), направляють паренхіматозні органи, лімфатичні вузли, головний і спинний мозок, оскільки пантропні віруси можуть розмножуватися в різних типах клітин.

У гострій стадії хвороби в період вірусемії обов'язково беруть кров (з яремної вени в об'ємі 5 - 10 см³) з метою виділення вірусу. Це стосується насамперед захворювань, що спричинюються антропоїдними вірусами. Для виділення вірусу використовують *цільну дефібриновану* або «*лакову*» кров (суміш крові з дистильованою водою 1:1), або *окремі кров'яні елементи* (для цього кров беруть з антикоагулянтом — 2,5%-й розчин натрію цитрату на 0,9%-му NaCl 1 : 2; 0,2 см³ рідкого гепарину з

активністю 5 тис. ОД/см³ або 0,2 см³ сухого гепарину на 100 см крові; консервувальний розчин Альсера (*консервувальний розчин Альсера*: 24,6 г глюкози, 9,6 г натрію цитрату, 5,04 г натрію хлориду і 1200 см³ дистильованої води). Крім того, кров потрібна для серологічного дослідження. З цією метою її беруть без антикоагулянту в об'ємі 10 - 15 см³, двічі в одних і тих самих тварин, на початку і наприкінці хвороби з інтервалом 2-3 тижні для отримання *парних сироваток крові*.

2. Відбір клінічного і патологоанатомічного матеріалу для лабораторних досліджень.

Носовий секрет відбирають за допомогою стерильного ватного або поролонового тампона, до якого

прив'язують шпагат. Тампон вводять у носовий хід, витримують 20 - 30 хв, потім вміщують у шприц і поршнем витискують секрет у пробірку. Аналогічно отримують вагінальний і цервікальний секрет.

Для одержання змивів зі слизових оболонок (*носа, рота, носоглотки, очей, прямої кишки, вагіни, препуція, клоаки у птиці*) відповідну порожнину зрошують стабілізуювальним середовищем і збирають у флакон рідину, що стікає. Стабілізуювальне середовище складається з 0,9%-го розчину NaCl (рН 7,0) або збалансованого сольового розчину Хенкса чи Ерла, або середовища для культури клітин (ГЛА, 199, Ігла), антибіотиків (пеніцилін 500 ОД/см³, стрептоміцин 500 мкг/см³ і ністатин 20 ОД/см³) і білкового стабілізатора (0,5 % желатину або 0,5 - 1 % альбуміну сироватки крові ВРХ), який запобігає швидкій інактивации вірусу. Змиви зі слизових оболонок можна отримати за допомогою стерильного ватного тампона на дерев'яній паличці, змоченого в стабілізуювальному середовищі, або брати мазки за допомогою сухого ватного тампона, протираючи ним відповідну порожнину. Тампони зі змивами і мазками вміщують у флакон зі стабілізуювальним середовищем.

При ураженні ротової порожнини беруть слину, яку збирають у пробірку, якщо саливація інтенсивна. При помірній саливації користуються стерильним ватним тампоном, який вводять під щоку, витримують 10 - 15 хв, потім дістають пінцетом і за допомогою шприца відтискають слину в пробірку. Для посилення саливації тварині можна ввести підшкірно пілокарпін (із розрахунку 0,02 - 0,05 мг/кг).

Проби калу беруть із прямої кишки за допомогою шпателя або палички і вміщують у пробірку чи флакон. Проби сечі беруть за допомогою катетера в стерильний посуд. Можна одержувати сечу при природному сечовипусканні або викликаючи його подразненням зовнішніх статевих органів.

Везикулярну і пустульозну рідини відсмоктують шприцом із тонкою голкою або пастерівською піпеткою, кінці якої запаяють. Поверхню везикул і пустул попередньо обробляють спиртом або ефіром. Можна відразу розбавити рідину стабілізуювальним середовищем (1 : 5).

Стінки везикул і пустул, кірки й луски з поверхні шкіри знімають пінцетом і вміщують у флакони зі стабілізуювальним середовищем. Також роблять зіскрібки з уражених ділянок шкіри і слизових оболонок ротової порожнини та носового дзеркала. Зіскрібки зі слизової оболонки глотки і стравоходу беруть спеціальним зондом.

Розтин трупів тварин проводять згідно із загальноприйнятою методикою. Для вірусологічного дослідження найчастіше беруть *легені, печінку, селезінку, нирки, лімфатичні вузли, слизові оболонки носа, рота, трахеї, бронхів, тонких кишок, шматочки новоутворень*. За наявності макроскопічних змін органів з ураженої ділянки вирізають шматочки масою 10 - 20 г, захоплюючи також неушкоджену тканину.

Головний мозок беруть повністю, розпилюючи черепну коробку після видалення волосяного покриву шкіри і м'язів та зняття твердої мозкової оболонки. *Спинний мозок* виймають цілим або фрагментами разом із корінцями, розсікаючи вздовж хребта м'язи спини, остисті відростки хребців і видаливши тверду мозкову оболонку.

3. Консервування і транспортування проб патологічного матеріалу.

Взятий патологічний матеріал потрібно якнайшвидше законсервувати, щоб зберегти вірус, оскільки його титр за відсутності живих клітин швидко знижується. Найкращим методом консервування патологічного матеріалу є використання термосів з охолоджувальними сумішами:

- 1) три частини льоду та одна частина кухонної солі (-15... -20 °С);
- 2) суміш однакових об'ємів сухого льоду (твердої вуглекислоти) й етилового спирту (-70 °С);
- 3) сухий лід (-79 °С).

Треба мати на увазі, що деякі віруси швидко гинуть при заморожуванні. Це стосується насамперед респіраторних вірусів (наприклад, віруси ПГ-3 і РС ВРХ). Тому для збереження таких збудників патологічний матеріал консервують за температур талого льоду (+2...+4 °С). У деяких випадках вірусомісний матеріал зберігають у рідкому азоті (-196 °С), зокрема кров і пухлинну

тканину при діагностиці хвороби Марека.

Для консервування шматочків органів і тканин можна використовувати 50%-й розчин гліцерину (на 0,9%-му розчині NaCl) у співвідношенні 1 : 5 ... 1 : 10. Однак треба мати на увазі, що такий патологічний матеріал не придатний для дослідження в РІФ. Тому одночасно з пробами матеріалу, вміщеними у флакони з гліцерином, потрібно направляти мазки-відбитки на предметних стеклах для люмінесцентної мікроскопії. Гліцерин не підходить для вірусовмісних рідин, особливо тоді, коли потрібно заражати живі об'єкти (лабораторні тварини, курячі ембріони чи культури клітин). Окрім гліцерину, шматочки органів і тканин можна вміщувати в стабілізуюче середовище.

На пробірки і флакони наклеюють етикетки з лейкопластиру, де пишуть простим олівцем, який саме матеріал і від якої тварини одержаний. Проби вміщують у металевий контейнер, який кладуть у термос і обкладають мішечками з охолоджувальною сумішшю.

Проби, консервовані гліцерином або стабілізуювальним середовищем, надсилають незамороженими за температури танучого льоду (+2...+4 °С). На термос із пробами патологічного матеріалу прикріплюють бирку з картону або фанери, на якій вказують господарство, вид тварини, вид матеріалу і дату. Термос має бути опечатаним.

На матеріал, що надсилають до лабораторії, пишуть супровідну, де подають повну інформацію про тварину, від якої взято проби, епізоотологічні дані господарства, вид матеріалу, попередній діагноз, прізвище спеціаліста і дату. Цими даними керуються при виборі напряму лабораторного дослідження.

Доставлені в лабораторію проби треба негайно використати для виділення вірусу. Якщо з якихось причин (наприклад, відсутність культури клітин) дослідження відкладається, патологічний матеріал потрібно зберігати при -20...-70 °С. Слід уникати багаторазового заморожування і відтавання його, оскільки це призводить до інактивації вірусу.

4. Підготовка вірусовмісного матеріалу для дослідження.

У лабораторії одержаний патологічний матеріал звільняють від консерванту (розморожують, відмивають від гліцерину). Частину матеріалу використовують для вірусологічного дослідження, іншу — зберігають у холодильнику на випадок додаткових досліджень.

Підготовка органів і тканин (одержання 10%-ї вірусовмісної суспензії). Тканину ретельно подрібнюють ножицями, розтирають у ступці з додаванням стерильного кварцового піску, розбавляють фосфатно-буферним розчином (ФБР) або розчином Хенкса з розрахунку 1:10, центрифугують при 2-3 тис. об/хв упродовж 15 - 30 хв. Надосадову рідину (вірусовмісну суспензію) переносять у флакони і додають антибіотики широкого спектра дії для деконтамінації (звільнення від супутньої мікрофлори): пеніцилін 100 - 1000 ОД/см³ і стрептоміцин 100 - 1000 мкг/см³ (дози залежать від виду тканини). Після експозиції 30 - 60 хв за кімнатної температури ставлять бактеріологічний контроль: роблять посіви на МПА, МПБ, МППБ і середовище Сабуро. При негативному результаті бактеріологічного контролю вірусовмісну суспензію використовують для зараження лабораторних об'єктів, а в разі позитивного результату її повторно обробляють антибіотиками і знову перевіряють на стерильність. У рідкісних випадках вірусовмісну суспензію звільняють від мікрофлори пропусканням крізь фільтри (фарфорові, азбестові, мембранні), що пов'язано з частковою адсорбцією на них вірусу. Вірусовмісну суспензію зберігають при -20...-70 °С.

Підготовка секретів і змивів. Секрети і змиви центрифугують при 2-3 тис. об/хв, надосадову рідину обробляють пеніциліном 500 - 1000 ОД/см³ та стрептоміцином 500 - 1000 мкг/см³ і після бактеріологічного контролю використовують для зараження лабораторних об'єктів. З осаду роблять мазки для РІФ. Аналогічно готують змиви і мазки, отримані за допомогою ватних тампонів, занурених у стабілізуюче середовище. Тампони струшують 10 - 15 хв, ретельно витискають, отриману рідину центрифугують, обробляють антибіотиками, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка калу. У флакон зі скляними намистинами вносять 10 см³ ФБР або розчину Хенкса і 1 г калових мас. Струшують до утворення гомогенної суміші, центрифугують при 2-3 тис. об/хв. Надосадову рідину обробляють пеніциліном 500 - 1000 ОД/см³, стрептоміцином 500 - 1000 мкг/см³ і ністатинном 30 - 40 ОД/см³, ставлять бактеріологічний контроль. Вірусовмісну суспензію зберігають при -10...-20 °С. У день зараження лабораторних об'єктів її розморожують і повторно центрифугують.

Підготовка сечі. Сечу за потреби освітлюють центрифугуванням при 2-3 тис. об/хв, обробляють пеніциліном 500 - 1000 ОД/см³ і стрептоміцином 500 - 1000 мкг/см³, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка вмісту везикул і пустул. Нативні везикулярну і пустульозну рідини розбавляють 0,9%-м розчином NaCl або розчином Хенкса 1 : 5, центрифугують при 2-3 тис. об/хв 20 хв, обробляють пеніциліном 200 - 500 ОД/см³ і стрептоміцином 200 - 500 мкг/см³, ставлять бактеріологічний контроль.

Аналогічно готують везикулярну і пустульозну рідини, розбавлені стабілізуювальним середовищем 1:5; освітлюють центрифугуванням, обробляють антибіотиками, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка уражень шкіри і слизових оболонок. Стінки везикул і пустул, кірки та луски шкіри розтирають у ступці зі стерильним кварцовим піском, розбавляють 0,9%-м розчином NaCl або розчином Хенкса 1 : 5 - 1 : 10, центрифугують при 2-3 тис. об/хв, обробляють пеніциліном 200 - 500 ОДсм³ і стрептоміцином 200 - 500 мкг/см³, ставлять бактеріологічний контроль.

Підготовка крові. Кров (дефібриновану, «лакову» або з антикоагулянтом) заморожують. Після відтавання гемолізовану кров центрифугують при 2-3 тис. об/хв 15 хв, обробляють пеніциліном 100 - 200 ОДсм³ і стрептоміцином 100 - 200 мкг/см³, ставлять бактеріологічний контроль. Для виділення вірусу придатна також зсіла кров. Її розтирають у ступці, додають розчин Хенкса 1 : 1 або 1 : 2, центрифугують, обробляють антибіотиками, ставлять бактеріологічний контроль.

Одержання сироватки крові. Беруть 10-15 см³ крові в стерильну пробірку з гумовою пробкою, витримують 1 год при +37 °С. Утворений згусток обводять скляною паличкою або пастерівською піпеткою та ставлять на 18-20 год у холодильник при +4 °С (для прискорення ретракції кров'яного згустку і збільшення виходу сироватки). Сироватку відбирають піпеткою, за потреби центрифугують при 1500 об/хв для видалення домішок еритроцитів, обробляють пеніциліном 100 - 200 ОД/см³ і стрептоміцином 100 - 200 мкг/см³, ставлять бактеріологічний контроль. Зберігають сироватку в холодильнику при +4 °С або в замороженому стані при - 10...-20 °С.

Тема лекційного заняття 3. Виділення вірусів на чутливих біологічних об'єктах.

1 Компоненти, основи для конструювання поживних середовищ.

Основою для виготовлення живильних середовищ можуть бути близькі за складом фізіологічні розчини Хенкса й Ерла, які готують на бідистильованій воді з додаванням мінеральних солей і глюкози. Наприклад, до складу розчину Хенкса входять такі речовини: 0,8 % NaCl; 0,04 % KCl; 0,01 % MgSO₄·7H₂O; 0,014 % CaCl₂; 0,006 % KH₂PO₄; 0,006 % Na₂HPCO₄; 0,1 % глюкози; 0,002 % фенолриту; 0,007 % NaHCO₃. Осмотичний тиск їх близький до осмотичного тиску сироватки крові, й вони збалансовані за аніонно-катіонним складом.

Під час виготовлення *природних живильних середовищ* до фізіологічних розчинів додають біологічні рідини: сироватку крові великої рогатої худоби або коней, курячу плазму, амніотичну рідину чи ембріональний екстракт великої рогатої худоби або курей. Проте ці середовища застосовують рідко.

Використовують здебільшого *штучні живильні середовища*. У процесі виготовлення штучних живильних середовищ до фізіологічних розчинів додають амінокислоти, вітаміни, попередники нуклеїнових кислот, фактори росту, джерела ліпідів, гідролізат лактальбуміну та інші речовини. Їх поділяють на синтетичні й напівсинтетичні.

До складу *напівсинтетичних середовищ* входять ферментативні гідролізати білкових речовин: 0,5%-й розчин гідролізату лактальбуміну (ГЛА) — продукт розщеплення білків молока; 2,5 - 5%-й розчин гемогідролізату — продукт розщеплення згустків крові великої рогатої худоби.

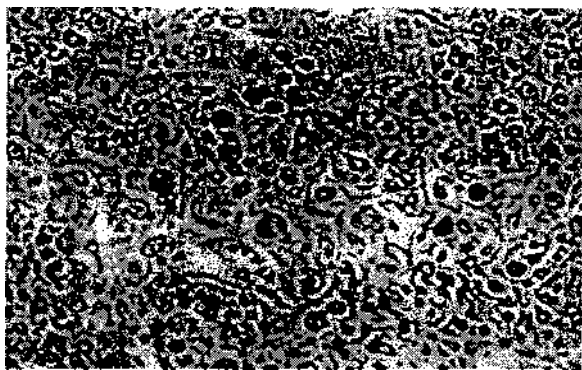


Рис. Перещеплена культура L-клітин (за М. І. Тоопенком та ін.3)

моношар клітин, який називають *одношаровою (моношаровою) культурою клітин*. Моношар може зберігати життєздатність упродовж 7-21 доби залежно від виду клітин при періодичній заміні середовища, забрудненого продуктами виділення клітин, на свіже.

Серед *переваг* первинної культури можна відзначити високу чутливість її клітин до вірусів і незмінений каріотип.

Недоліками первинної культури є те, що клітини можуть бути контаміновані вірусом вихідної тканини, окремо первинну культуру

потрібно щоразу отримувати заново, оскільки вона не здатна до тривалих пасажів (пересівань).

Субкультура — це культура, отримувана пересіванням клітин первинних культур у матраці, пробірки чи флакони зі свіжим живильним середовищем. Моношар знімають зі скла розчином трипсину, версену або розчином із суміші трипсину з версеном (у співвідношенні 1 : 9), підігрітим до 35 - 37 °С, ресуспендують у свіжому живильному середовищі й висівають у нові матраці, пробірки чи флакони.

Субкультивування збільшує кількість клітин у 2 - 2,5 раза. Субкультури так само чутливі до вірусів, як і первинні; крім того, вони дають змогу виявити контамінацію клітин вірусом. Недоліком субкультур є те, що їх можна отримувати тільки впродовж 2-5 і дуже рідко — 8 - 10 пасажів. Наступні пасажі сприяють зміні морфології клітин та їх загибелі. Якщо клітинні культури пройшли понад 10 пасажів, то вони перебувають на стадії переходу до перещеплюваних культур клітин.

Перещеплювана культура клітин(постійна клітинна лінія) (рис. 16) — це клітини, здатні до необмеженої кількості пасажів *in vitro*, результатом чого є їхнє невизначено тривале розмноження поза організмом. Отримують їх із первинних культур за допомогою багаторазових пересівань (не менше 70 разів) з однієї посудини в іншу зі свіжим живильним середовищем впродовж кількох місяців. Припускають, що в культурі з'являються клітини з мутаціями в геномі, які не гинуть під час пасажів, або селекціонуються й розмножуються, переживаючи клітини, наявні у вихідній первинній культурі, й здатні до необмеженої кількості пасажів. Клітини перещеплюваної культури мають однакову форму, але містять різні набори хромосом; така культура клітин стає гетероплоїдною.

Для отримання перещеплюваних культур клітин використовують як здорові, так і пухлинні тканини організму тварин. Культура клітин Hei₃, наприклад, отримана з карциноми шийки матки жінки, L — із мишачих фібробластів, ППЭС — із нирки ембріона свині, ППТ — із нирки теляти, ВНК-21 — із нирки новонародженого сирійського хом'ячка.

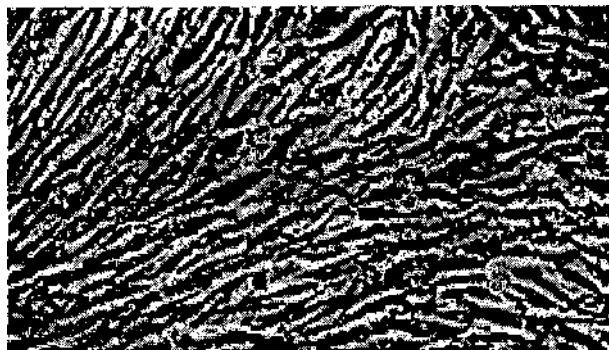
Перещеплювані культури клітин періодично пересівають. Для цього з 2-3-денної культури з якісним моношаром зливають середовище і вносять 0,02%-й розчин версену, підігрітий до 37 °С. Під дією версену клітини відшаровуються від скла.

Переваги перещеплюваних культур клітин перед первинними полягають у тому, що їх простіше готувати, вони економічніші за часом і затратами праці; їх можна заздалегідь перевірити на контамінацію вірусом і мікоплазмами; вони забезпечують більш стандартні умови для культивування вірусів.

До недоліків перещеплюваних культур клітин належать їх гетероплоїдність, можливість контамінації вірусами й *мікоплазмами*, схильність до малігнізації, тобто злоякісного переродження, що обмежує їх використання, особливо у виробництві живих противірусних вакцин.

Диплоїдна культура клітин вільна від цих недоліків і найбільш зручна в роботі. Вона є морфологічно однорідною популяцією клітин із диплоїдним набором хромосом, що зберігається під час пасажів. Диплоїдна культура вільна від контамінантів і не має онкогенної активності у разі трансплантації хом'ячкам. Можлива кількість пасажів диплоїдної культури становить 40 - 60, однак якщо частину клітин заморозити при мінус 196 °С, а потім відновити, то культуру можна використовувати й більш тривалий час.

Диплоїдні культури клітин отримують із первинних, а для запобігання зміні їхнього каріотипу застосовують спеціальні методи обробки тканини, живильні середовища високої якості й обов'язково фетальну сироватку крові. Диплоїдні культури отримують із нирки ембріона корови (НЕК), нирки ембріона свині (НЕС), нирки хом'ячка (ВНК-21), а також із тимуса, шкіри, селезінки, кісткового мозку й лімфовузлів



кролів, морських свинок та інших тварин.

Переваги диплоїдних клітин перед первинними й перещеплюваними полягають у тому, що без зміни живильного середовища вони залишаються життєздатними 10-12 діб, а щотижнева заміна живильного середовища сприяє життєздатності впродовж місяця. Вони зберігають під час пасажів вихідну чутливість до вірусів і найбільш придатні для тривалого їх культивування.

Суспензійну культуру клітин отримав у 1953 р. Оуенс, який запропонував метод вирощування моношарових культур у вільно

суспендованому стані завдяки постійному перемішуванню живильного середовища. В суспензії клітини знаходяться ізольовано або зібрані в невеликі конгломерати. їх культивують у пробірках, що обертаються в барабані зі швидкістю 50 об/хв; у бутлях зі швидкістю обертання 120 - 180 об/хв. або в бутлях на магнітній мішалці. Однак недоліком, який стримує використання суспензійних культур для виробництва антивірусних вакцин, є те, що тільки перещеплювані клітини здатні до вирощування в

суспензії.

У біологічній промисловості широкомасштабне суспензійне культивування клітин здійснюють у спеціальних реакторах, де чітко регулюються швидкість перемішування, якісний склад живильного середовища, показники рН, температури та ін.

Сучасні методи використання мікроносіїв (сефадекс, силікагель) для суспензійного культивування первинних і диплоїдних клітин, які залежать від прикріплення до твердого субстрату, дають можливість клітинам утворювати моношар на мікроносіях. Ці методи відкривають широкі перспективи для виробництва противірусних вакцин і діагностиків.

2. Отримання культури клітин.

Методика отримання первинно-трипсинізованої культури клітин із тканин курячого ембріона. Усю роботу з клітинними культурами виконують у стерильних боксах. За допомогою овоскопа відбирають життєздатні курячі ембріони 9-11-денного віку, відмічають простим олівцем межу повітряної камери й зародок. Переносять їх у бокс і розміщують на підставці для ембріонів, поверхню шкаралупи протирають ватяним тампоном, змоченим йодованим спиртом, і фламбують. Стерильними ножицями зрізують шкаралупу на 2 – 3 мм вище від межі повітряної камери й стерильним пінцетом, розірвавши підшкаралупову й хоріоналантаїсну оболонки, витягують за шийку ембріон і кладуть у стерильну чашку Петрі.

За допомогою ножиць і пінцета видаляють голову, лапки, крила й внутрішні органи ембріона. Шкірно-м'язову тканину переносять у стерильну банку й подрібнюють ножицями на шматочки розміром 2-3 мм.

Подрібнену тканину 2-3 рази відмивають від крові й слизу розчином Хенкса до отримання прозорого розчину.

Отриману масу переносять у стерильну колбу з магнітом, попередньо замінивши ватяну пробку на гумову. Тканину заливають 0,25%-м розчином трипсину, підігрітим до 35 - 37 °С, щоб шматочки були покриті розчином заввишки 10 - 15 мм (співвідношення тканини й трипсину 1 : 3). Колбу ставлять на магнітну мішалку на 5 - 7 хв до появи опалесценції, завись клітин у трипсині зливають у склянку. У колбу додають нову порцію підігрітого трипсину, тканину знову трипсинізують 5 - 7 хв. Клітинну суспензію разом із трипсином зливають у стерильний флакон, який ставлять у холодильник за температури 4 °С для припинення дії трипсину на клітини. Трипсинізацію проводять при 37 °С дробно, кілька разів (до повного розщеплення тканини).

Розроблено також методики холодної трипсинізації при 4 - 6 °С впродовж 12 - 16 год.

Охоложені флакони із суспензією клітин розміщують у центрифужні стакани, врівноважують на вагах і центрифугують при 1 тис. об/хв впродовж 10 хв.

Надосадову рідину зливають, а до осаду стерильною піпеткою з грушею добавляють невелику кількість ростового живильного середовища, що містить 10 % сироватки крові великої рогатої худоби. Осад клітин ресуспендують у живильному середовищі, суспензію фільтрують у колбу крізь потріпаний шар стерильної марлі. Потім лійку в колбі змінюють на стерильну гумову пробку й відбирають 1 мл суспензії з метою підрахунку клітин у камері Горяєва.

У разі недостатньої кількості засіяних клітин моношар не створюватиметься (навіть за тривалого культивування), чим і пояснюється необхідність визначення їх кількості в отриманій суспензії клітин. Посів надгустої суспензії призведе до інтенсивної проліферації клітин, а в подальшому — до їх неспецифічної дегенерації.

Методика визначення концентрації клітин у суспензії. До 1 мл відібраної суспензії клітин добавляють такий самий об'єм 0,1%-го кристалвіолету на 0,1 н розчині лимонної кислоти. Після перемішування забарвленою суспензією клітин заповнюють камеру Горяєва й підраховують усі клітини з ядром та неушкодженою цитоплазмою; якщо трапляються групи клітин із чітко окресленими контурами, їх вважають однією клітиною.

Підраховують клітини в двох камерах, знаходять середнє арифметичне для камери й визначають кількість клітин в 1 мл суспензії (X) за формулою:

$$X = (A \cdot 2 \cdot 1000) : 0,9,$$

де A — середня кількість клітин в одній камері; 2 — коефіцієнт розбавлення суспензії фарбою; 1000 — кількість кубічних міліметрів у 1 см³; 0,9 — об'єм камери Горяєва, мм³.

Здебільшого при посіві у пробірки оптимальна посівна концентрація становить 200 - 500 тис. клітин, а для курячих фібробластів — 0,7 - 1 млн клітин на 1 мл. У зв'язку з цим розраховують, скільки живильного середовища потрібно додати до суспензії клітин, щоб отримати відповідну концентрацію.

Наприклад, $X = 8$ млн/мл. Потрібно приготувати суспензію з концентрацією клітин 0,8

млн/мл. Обчислюємо: $8 : 0,8 = 10$. Отже, до 1 мл вихідної суспензії клітин потрібно додати 9 мл живильного середовища.

Розбавлену в такий спосіб живильним середовищем суспензію клітин стерильною піпеткою з грушею розливають у стерильні пеніцилінові флакони чи пробірки з гумовими пробками по 1 мл. На флакон чи пробірку восковим олівцем наносять поздовжню риску, кладуть їх на планшет рискою догори під кутом нахилу 5° . Планшет вміщують у термостат при 37°C .

Розвиток клітинної культури відбувається у кілька фаз:

- ◆ фаза адаптації;
- ◆ фаза логарифмічного росту;
- ◆ стаціонарна фаза;
- ◆ фаза старіння.

Фаза адаптації спостерігається у період від 2 до 24 год після посіву. У цей період клітини прикріплюються до щільної поверхні (скла, пластику), адаптуються до умов *in vitro*.

Прикріплення клітин пов'язане з наявністю двовалентних катіонів та глікопротеїнів, адсорбованих на культуральній поверхні, яка має бути гідрофобною. Якщо білка та двовалентних катіонів немає, клітини прикріплюються до поверхні неміцно, лише за рахунок неспецифічної адсорбції.

Важливим компонентом, що зумовлює надійне прикріплення клітин до щільної поверхні, є глікопротеїн з молекулярною масою 200 - 250 кДа — фібронектин, який є основним компонентом клітинної поверхні і забезпечує адгезивну активність клітин незважаючи на те, що концентрація його на поверхні клітин досить низька. Іноді для підсилення адгезивної активності клітин фібронектин вносять у культуральне середовище. Проте і в ростових середовищах, що містять 10% сироватки крові великої рогатої худоби, міститься 2-3 мкг/мл фібронектину.

Значення двовалентних катіонів (Ca^{2+} і Mg^{2+}) в адгезії клітин полягає, очевидно, в тому, що вони забезпечують зв'язок фібронектину з щільною поверхнею (склом, пластмасою). Взаємодія клітин з щільним субстратом відбувається поетапно. Спочатку спостерігається адсорбція сироваткових білків на субстраті, потім клітини прикріплюються до адсорбованих сироваткових білків за рахунок поверхневих клітинних глікопротеїнів.

Адсорбція клітин на щільній поверхні та їх адаптація триває від 5 - 6 до 24 год.

Фаза логарифмічного росту розпочинається тоді, коли клітини, що адсорбувалися на поверхні скла (пластику), починають швидко розмножуватися, і триває зазвичай 2-3 доби.

Стаціонарна фаза розпочинається за умови завершення формування моношару та появи контактів між сусідніми клітинами, поділ яких істотно гальмується. Ця фаза триває від кількох діб до кількох тижнів, що залежить від виду клітинної культури, умов, за яких вона зберігається. Регулярна заміна або реабілітація підтримувального (ростового) середовища закономірно сприяє подовженню цієї фази.

Фаза старіння характеризується появою дегенеративних змін у клітинах. Вони гинуть та відшаровуються від скла (пластику).

Культуру клітин щодня досліджують під мікроскопом. Якщо клітини не діляться, відшаровуються від скла, округлені, із зернистим вмістом, темні, це свідчить про токсичність сироватки, середовища або неякісну обробку посуду. Проліферуючі клітини зазвичай світлі, сполучені між собою цитоплазматичними містками. Курячі фібробласти, як правило, утворюють моношар через 36-48 год. Після формування моношару ростове середовище замінюють на підтримувальне. Якщо середовище набуває жовтого кольору, його необхідно замінити свіжим, оскільки в ньому накопичуються кислі продукти обміну клітин, що може призвести до їх загибелі. Від одного курячого ембріона можна отримати понад 100 млн клітин.

Отримання субкультури. Для отримання субкультури відбирають матраци (пробірки, флакони) з якісним, суцільним моношаром первинно-трипсинізованої культури клітин. Із пробірок, флаконів чи матраців зі сформованим моношаром клітин видаляють підтримувальне середовище, вносять підігрітий до 37°C версен, кладуть їх у термостат на 15-20 хв і за перших ознак відшарування клітин від скла диспергувальний розчин зливають. У посудини додають невелику кількість ростового середовища, енергійно струшують їх для повного відшарування клітин від скла, обережно піпетують. Потім підраховують концентрацію живих клітин, додають ростове живильне середовище і висівають на матраци, флакони чи пробірки. Далі їх вміщують у термостат за тих самих умов, що й при отриманні первинно-трипсинізованих культур.

Зазвичай кількість клітин під час пересівань збільшується в 2 - 2,5 раза. З кожного матраца об'ємом 1000 см^3 можна отримати не менш як два матраци із субкультурою.

Відповідно до викладеної методики виконують пересівання диплоїдної й перещеплюваної культур клітин

3. Зберігання культури клітин.

За багаторазових пасажів первинних, диплоїдних клітин і ліній перещеплених клітин *in vitro* можливе бактеріальне забруднення й виникнення неконтрольованих (генетичних) змін у самих клітинах. Для збереження вихідних біологічних властивостей культури клітин доводиться консервувати. Найпростішим методом консервування культури клітин є зберігання їх при 4 °С до 1-6 тижнів або заморожування в рідкому азоті (мінус 196 °С), в якому вони зберігаються впродовж кількох років. В останньому випадку клітини попередньо знімають зі скла матраців трипсином або версеном, суспендують до концентрації 1 млн/мл у живильному середовищі, що містить 10- 40% сироватки крові великої рогатої худоби й 10% очищеного стерильного гліцерину чи диметилсульфоксиду (ДМСО). Суспензію клітин розливають по 3 мл в ампули, запаюють їх і розміщують у холодильнику (4 °С) на 1 - 3 год для контакту з консервантом. Потім поступово заморожують до мінус 25 °С у суміші етанолу із сухим льодом так, щоб швидкість охолодження становила 1 °С за 1 хв, а при заморожуванні від -30 до -70 °С швидкість охолодження не повинна перевищувати 4 - 6 °С за 1 хв.

Після заморожування до -25 °С ампули можна покласти в сухий лід (-78 °С), а після заморожування до -70 °С ампули зберігають у посудині Дьюара з рідким азотом (-196 °С).

Відновлюють заморожені клітини, занурюючи ампули у водяну баню (37 °С) на 1-2 хв і легкого струшуючи. Потім суспензію клітин виливають у посудину, додають відповідну кількість ростового живильного середовища і культивують у термостаті при 37 °С. Наступного дня живильне середовище замінюють на свіже.

Під час транспортування клітин посудини з моношаром доверху заливають середовищем, що містить 5 % сироватки крові, і закривають гумовими пробками. При 4 °С до 90 % клітин зберігають життєздатність упродовж тижня. У лабораторії середовище зливають і використовують як добавку до середовища, яке використовують у цій установі, для адаптації до нього клітин.

Культури клітин мають значні *переваги* перед іншими живими системами, зокрема:

- ♦ дають змогу заразити всі клітини в культурі й отримати максимальний вихід вірусу з мінімальним білковим баластом;
- ♦ при культивуванні вірусів знімаються видові обмеження, оскільки віруси можна вирощувати на культурі клітин, отриманої із тканин тварин іншого виду;
- ♦ дають змогу втручатися в інфекційний процес і контролювати його хід, не порушуючи цілісності живої системи;
- ♦ дають можливість отримати готову, вільну від грибів і бактерій суспензію вірусу у вигляді культуральної рідини;
- ♦ техніка зараження культур клітин й отримання вірусомісного матеріалу характеризується достатньою простотою й відносно низькою вартістю.

Культивування й методи індикації вірусів у культурі клітин

Культури клітин використовують з метою:

1. первинного виявлення й виділення вірусу з патологічного матеріалу;
2. накопичення вірусної біомаси, що має велике значення у виробництві вакцин і діагностикумів;
3. тривалого підтримання вірусних штамів у лабораторних умовах;
4. титрування вірусів;
5. як тест-об'єкт у реакції нейтралізації.

Культивування вірусів у культурі клітин. Методикою передбачено такі етапи:

1. добір культури клітин;
2. отримання вірусомісного матеріалу;
3. підготовка вірусомісного матеріалу для зараження;
4. зараження культури клітин вірусомісним матеріалом;
5. інкубація заражених клітинних культур;
6. індикація вірусу в культурі клітин;
7. збір культуральної рідини та ідентифікація в ній вірусу.

Добір культури клітин. Якщо первинну культуру отримано з органів тварини, природно сприйнятливої до цього вірусу, то вірус легко адаптується до неї, особливо в перший день формування моношару, коли клітини молоді. Проте до перещеплених клітин віруси адаптуються важко, а іноді зовсім у них не репродукуються. Для культивування деяких вірусів і дотепер не підібрано жодної культури клітин.

Зараження клітин вірусом. Флакони, пробірки або матраци з суцільним моношаром клітин

відбирають, досліджуючи їх за малого збільшення мікроскопа. Відібрані посудини зкультурою клітин переносять у стерильний бокс, де живильне середовище зливають, а моношар 1 - 2 рази промивають розчином Хенкса для видалення сироваткових антитіл та інгібіторів. У 4 - 10 пробірок (флаконів) стерильною піпеткою з грушею вносять по 0,1 - 0,2 мл вірусомісного матеріалу, у матраці — у кількості 1 - 1,5 % їх об'єму. Рівномірно погойдуючи, розміщують його по моношару. У кілька пробірок вірус не вносять і залишають їх як контроль. Контрольні й дослідні пробірки з вірусом вкладають рискою догори у штатив під кутом 5° на 1 - 2 год за кімнатної температури або при 37 °С для адсорбції вірусу на клітинах. Потім зливають залишки вірусомісного матеріалу і вносять у пробірки по 1 - 2 см³ підтримувального середовища з антибіотиками, а в матраці — 10 - 15 % їхнього об'єму.

Якщо є підозра, що вірусомісний матеріал може бути токсичним (наприклад, суспензія, отримана із вмісту кишок хворої чи загиблої тварини), моношар клітин перед внесенням підтримувального середовища 1 - 2 рази відмивають розчином Хенкса.

Тема лекційного заняття 4. Лабораторна діагностика рикетсіозів.

Рикетсії – особлива група мікроорганізмів, яким разом з хламідіями належить проміжне місце між бактеріями та вірусами. Описані вперше американським мікробіологом Хоуардом Рикетсом в 1906 р. при вивченні гарячки Скалистих гір і мексиканського висипного тифу. Значний внесок у вивчення подібних захворювань вніс бразилець Роша Ліма, який запропонував їх називати рикетсіозами, а збудників – рикетсіями.

У визначнику бактерій Берджі рикетсії знаходяться у відділі *Gracilicutes*, в якому дев'ята секція складається із двох порядків – *Rickettsiales* і *Chlamydiales*. У першому порядку налічується вісім родів, серед яких найбільше значення мають: *Rickettsia*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, *Cowdria* та ін.

У біології рикетсій особливе значення мають членистоногі (воші, кліщі та ін.), які є переносниками мікроорганізмів на тварин і людей. Крім патогенних, можуть зустрічатися і сапрофітні рикетсії.

Форма рикетсій паличко-, ниткоподібна або кокова, розміри коливаються у межах 0,2-0,3 x 0,3-1 мкм. Типові облігатні паразити, які культивуються в живих або переживаючих клітинних системах, зокрема, в епітеліальних клітинах кишечника вошей, кліщів, культурах клітин та у курячих ембріонах.

Рикетсії не утворюють спор і капсул, нерухливі, грамнегативні, за субмікроскопічною структурою не відрізняються від грамнегативних бактерій. Фарбуються спеціальними методами – за Романовським – Гімза, Здродовським, Маккіавелло, срібленням по Морозову. У тварин рикетсії викликають такі хвороби, як інфекційний гідроперикардит жуйних, Ку-гарячку, рикетсійні моноцитоз, кератокон'юнктивіт та інші хвороби. А у людей – висипний тиф, різного роду гарячки (марсельську, Скалистих гір). Більшість рикетсіозів є зоонозами.

Тема лекційного заняття 5. Лабораторна діагностика хламідіозів.

Хламідії відомі людству з незапам'ятних часів. Найбільш раннє повідомлення про захворювання очей у людей, природа якого була пізніше визначена як хламідійна, зустрічається ще в одному із папірусів за 1500 років до н. е. В 1892 р. серед людей, які пливли з Південної Америки в Європу і мали контакт з папугами, виникло захворювання, що характеризувалося пневмонією. Дослідник Моранг назвав його *psittacozom* (від *psittacos*, лат. - папуга). Потім стало відомо, що цю інфекцію можуть поширювати не лише папуги, а й інші птахи, у зв'язку з чим її стали називати орнітозом (*Ornis* – птах).

Гальберштадтер і Провачек у 1907 р. описали генітально-окулярну інфекцію у людей, збудника якої вони назвали хламідіями. Понад три десятки видів збудників різноманітних форм інфекційних захворювань людини та тварин, що споріднені за морфологією, циклом розвитку та наявністю групового антигену, були об'єднані в одну родину, котра має назву «хламідії» (*chlamydia*).

Хвороби, зумовлені хламідіями у ссавців, були описані Мак Нуттом і Стемпом лише в 40-50-х роках минулого століття переважно у великої рогатої худоби і овець, а пізніше їх виявили й у тварин інших видів. Хламідіоз свиней в Україні виявив і описав Бортнічук В.А. із співробітниками у 1970-75 роках. Вчені одночасно досліджували епідеміологічну роль хламідій, виявлених у свиней.

Хламідій відносять до класу *Microtobiotas* (бактерії – облігатні внутрішньоклітинні паразити), порядку *Chlamydiales* ord. nov., родини *Chlamydiaceae*, роду *Chlamydia* з двома видами *Chl. trachomatis*, *Chl. psittaci*. У «Визначнику бактерій» Берджі (1997) відносяться до Групи 9 «Рикетсії і хламідії».

Вид *Chl. trachomatis* об'єднує збудників, що викликають у людей трахому, уrogenітальну інфекцію, венеричну лімфогранульому, неонатальну пневмонію, а також ендемічну пневмонію у мишей.

Збудники, що об'єднані у вид *Chl. psittaci*, утворюють у клітинах нещільні розпушені

мікроколонії, які не фарбуються йодом через відсутність глікогену. Вони нечутливі до судьфадіазину натрію, в цитоплазмі уражених клітин реплікуються повсюди і частіше розташовуються вільно, оскільки мембрани везикул розриваються на ранній стадії інфекції. До цього виду відносять збудників хламідіозів сільськогосподарських, промислових і диких тварин, а також орнітозу птахів. Є дані, що серед представників обох згаданих видів існують імуноваріанти.

Морфологія. Морфологія хламідій своєрідна, а інфекційною формою є заокруглені елементарні тільця розміром величина яких коливається в межах 250-450 нм. Елементарні тільця є зрілою формою хламідій, котрі можуть знаходитись компактно у внутрішньоклітинних включеннях або бути розсіяними у цитоплазмі епітеліальних клітин, або ж поза ними у міжклітинній рідині. Вони нерухомі, грам-негативні, фарбуються за Маккіавелло переважно у червоний колір, а за Романовським-Гімза в червоно-фіолетовий. Забарвлення хламідій залежить від стадії розвитку. Під звичайним світловим мікроскопом цитоплазматичні форми мають вигляд краплинних утворень.

Елементарні тільця мають двошарову оболонку, а рибосоми містять РНК і ДНК. Механізми розвитку хламідій включаються після ендодитозу в цитоплазму епітеліальної клітини. В останній з'являються ендодитозні вакуолі, котрі вміщують включення з колоніями часток на різному ступені їх зрілості.

Приблизно через 16 год. після враження, включення починають диференціюватися на дрібніші структури і повний цикл їх розвитку завершується через 40-48 год. (за деякими даними за 24-48 год.).

Цикл розвитку хламідій включає три основних етапи, а саме контакт елементарного тільця із чутливою епітеліальною клітиною, проникнення його у цитоплазму шляхом ендодитозу та перетворення ретикулярних тілець через проміжні форми в елементарні тільця нового покоління. Елементарні тільця концентруються у вакуолях цитоплазми. У них же вони перетворюються у великі ретикулярні (сітчасті) форми до 800-1000 нм в діаметрі. Сітчасті форми неінфекційні і розмножуються шляхом бінарного ділення, перетворюючись у дрібні ущільнені тільця. В одному цитоплазматичному включенні, як вже згадувалось, можуть знаходитись хламідії різних стадій розвитку та розмірів – дрібні, великі і дуже великі заокруглені утворення-мікроколонії в 1-12 мкм діаметром, котрі розпадаючись вивільняють сотні елементарних тілець.

Хламідії як облігатні внутрішньоклітинні паразити в процесі розмноження проходять складний цикл з утворенням проміжних морфологічних форм. Основним компонентом чистої популяції хламідій є елементарні тільця, що мають сферичну або овальну форму

Культуральні властивості. Хламідії як облігатні внутрішньоклітинні паразити не можуть культивуватися на штучних живильних середовищах. У зв'язку з цим для їх розмноження використовують живі клітинні системи: заражають курячі ембріони у жовтковий міхур, вводять відповідні матеріали в організм білих мишей, морських свинок або ж заражають культури клітин. Хламідії проникають у чутливі клітини, де й відбувається цикл їх розвитку, який, триває 48-72 год.

Хламідії слід розглядати як грамнегативні, нерухливі бактерії, що не утворюють спор і капсул. Є повідомлення про можливість ураження хламідій фагом.

Біохімічні властивості. Хламідії здатні виробляти такі ферменти, як дегідрофталатредуктазу, транскарбамілазу, ізомеразу глюкози, цитохромредуктазу, нуклеазу, протеазу, пептидазу та деякі інші, які беруть участь в синтезі фолієвої кислоти, аргініну, специфічних білків, нуклеїнових і мурамової кислот.

Однак, у хламідій відсутні аеробні та анаеробні енергетичні реакції, вони не здатні окислювати майже усі амінокислоти, мають лише один фермент перенесення електронів, у зв'язку з чим ці мікроби залишаються повністю залежними від клітини-живителя.

Антигенна структура хламідій складна. Порівняно добре вивчено груповий термостабільний антиген, характерний, для усіх представників роду *Chlamydia*.

Термолабільний антиген характерний лише для конкретного виду, тобто є видоспецифічним.

Шляхом постановки реакції нейтралізації у курячих ембріонах хламідії розмежували не лише на види, а й на серовари. При постановці РЗК з типоспецифічними антигенами Іразер і Берман розділили 14 штамів хламідій різного походження на сім серологічних підгруп.

Патогенність. У природних умовах хламідії уражують практично всі види сільськогосподарських, багато видів диких тварин і птицю. Частіше хламідіоз уражує овець, кіз, свиней, велику рогату худобу, коней. Сумарно хламідіозна інфекція виявлена більше; ніж у 130 видів із 28 родів птахів і у 20 видів ссавців.

Діагностика. При діагностиці хламідійних інфекцій спираються на комплекс клінічних та епізоотичних показань, однак основною підставою для постановки діагнозу слугують результати лабораторних досліджень. У лабораторній діагностиці хламідіозу тварин застосовують вірусологічний

та серологічний методи, які використовують у відповідності до „Настанови з лабораторної діагностики хламідіозів сільськогосподарських тварин”, затвердженої Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства АПК України в 2008 році. Для лабораторних досліджень на хламідіоз направляють асептично відібрані шматочки плаценти, легенів, печінки, селезінки, лімфовузлів, вагінально-маточний секрет, сичуг абортіваного плоду або цілий плід, сім'яники, ексудат з грудної або черевної порожнини, зіскоби з кон'юнктиви очей, слизової матки, еякулят в об'ємі не меншому 1 см³, глибоко заморожену сперму не менш 4 гранул, проби інших органів і тканин. Патологічний матеріал відбирають не пізніше ніж через 2 години після загибелі, забою або абортіву в стерильні закриті гумовими пробками флакони. Флакони з патологічним матеріалом або еякулят транспортують в термосі з льодом, глибоко заморожену сперму в контейнері з рідким азотом в день відбору матеріалу, але не пізніше ніж за 24 години після відбору матеріалу, при умові зберігання на холоді з дотриманням застережень, що виключають розповсюдження збудника інфекції.

У лабораторіях ветеринарної медицини діагноз установлюють із застосуванням таких методів:

- ізоляція хламідій на курячих ембріонах, лабораторних тваринах, культурах клітин з наступною ідентифікацією в реакції імунофлюоресценції (РІФ), імуноферментним методом (ІФА), полімеразно-ланцюговою реакцією (ПЛР);

- виявлення антигену хламідій в патологічному матеріалі та в спермі за допомогою РІФ, ІФА, ПЛР;

- виявлення хламідій методами світлової мікроскопії з подальшою ідентифікацією в РІФ;

- виявлення ДНК хламідій в патматеріалі, спермі, зіскобах з кон'юнктиви та слизових оболонок генітальних органів за допомогою ПЛР;

- виявлення зростання титрів антитіл до хламідій у сироватках крові методами РЗК, РНГА, ІФА при дослідженні парних сироваток крові з інтервалом 2-4 тижні.

Діагноз на хламідіоз вважають установленим при одержанні позитивних результатів в одному з нижче наведених випадків:

- хламідії виділені з патматеріалу або сперми на курячих ембріонах, лабораторних тваринах, у культурах клітин й ідентифіковані в РІФ, ІФА, ПЛР;

- виявлений антиген хламідій методами ІФА, РІФ;

- хламідії виявлені за допомогою ПЛР.

Імунітет при хламідіозі переважно клітинний. Наявність в сироватці крові комплексів зв'язуючих антитіл не захищає тварин від розвитку інфекції при їх експериментальному зараженні хламідіями. Є дані про те, що лише на ранньому етапі хламідіозної інфекції антитіла, особливо імунні глобуліни класу М, відіграють певну роль при блокуванні збудника і очищенні від нього організму.

У СНД використовують інактивовану вакцину проти хламідіозу овець. Існує полівалентна вакцина «Плах» (проти парвовірусної інфекції, лептоспірозу, хвороби Ауескі і хламідіозу свиней).

За рубежом застосовують комплексну вакцину для профілактики хламідіозу овець, великої рогатої худоби і свиней. Це жива ембріон-вакцина, виготовлена із штаму хламідій пневмонії котів, безпечною для сільськогосподарських тварин. На стадії випробування перебувають кілька вакцин різної конструкції.

Від застосування імунних лікувальних сироваток на початковій стадії розвитку інфекції одержують позитивний ефект (особливо в телят) у поєднанні з іншими препаратами.

Тема лекційного заняття 6. Лабораторна діагностика мікоплазмозів.

Мікоплазми (плевропневмонієподібні організми – ПППО) – Pleuropneumonia-like organism – велика група надзвичайно поліморфних мікроорганізмів-прокаріотів, що не мають ригідної клітинної стінки. Розмір мікоплазм коливається від 0,7-1 до 8-10 мкм.

Перші відомості про мікоплазми були одержані французькими дослідниками Нокаром і Ру (1898) при вивченні плевропневмонії великої рогатої худоби. Однак автори вважали, що мають справу не з якимись особливими мікроорганізмами, а з грибами, тому й дали назву збуднику згаданого захворювання *Mycoplasma reipneumoniae*. Пізніше подібні мікроорганізми були ізольовані від людей, рослин, з ґрунту, води та інших об'єктів зовнішнього середовища.

Більшість мікоплазм — паразити, які розвиваються в організмі людини, тварин або рослин. Мікоплазми -сапрофіти зустрічаються у ґрунті, на поверхні рослин. Серед мікоплазм-сапрофітів є цікава група, на поверхні цитоплазматичної мембрани яких відкладаються оксиди заліза та марганцю. Деякі види їх можуть призводити до руйнування металевих і навіть залізобетонних конструкцій.

У людини патогенні мікоплазми можуть викликати запалення легень, верхніх дихальних шляхів, статевих органів та ін. У рослин мікоплазми викликають понад 30 інфекційних захворювань.

Захворювання, зумовлені мікоплазмами, прийнято називати мікоплазмозами, або мікоплазмовими інфекціями.

Мікоплазми належать до класу *Mollicutes*, який входить до відділу *Tenericutes*.

Клас *Mollicutes* (лат. *Molli* – м'який, *cutes* – покрив) об'єднує прокаріотичні організми, які не мають істинної клітинної стінки, а оточені лише тришаровою мембраною, здатні рости на штучних живильних середовищах.

У класі *Mollicutes* лише один порядок *Mycoplasmatales*. Останній включає три родини: мікоплазми (*Mycoplasmataceae*), ахолеплазми (*Acholeplasmataceae*) та спіроплазми (*Spiroplasmataceae*).

До родини мікоплазм входять рід мікоплазма *Mycoplasma*, що налічує понад 70 видів, та рід *Ureaplasma* – включає п'ять видів мікоплазм. У визначнику бактерій Берджі (1997) мікоплазми складають Групу 30 «Мікоплазми (молікути): бактерії без клітинної стінки»

Морфологія. Мікоплазми надзвичайно поліморфні мікроорганізми. Зустрічаються клітини кулясті, паличко-, спірале-, кільце-, зірко-, ниткоподібні, інколи розгалужені або спіралеподібні нитки та інші форми. Ступінь поліморфізму пов'язаний з видом мікоплазм, характеристикою середовища, у якому вони розвиваються, віком культури та іншими факторами. Так, збудник плевропневмонії великої рогатої худоби завжди поліморфніший порівняно із збудником респіраторного мікоплазмозу птиці. Мікоплазми, вирощені на штучних живильних середовищах, як правило, більш поліморфні за тих, яких виявляють у матеріалах від хворих тварин.

Поліморфізм мікоплазм пов'язаний з кількома обставинами, насамперед з тим, що відсутність твердої клітинної стінки зумовлює надзвичайну їх пластичність. Конфігурація клітин мікоплазм змінюється під дією різноманітних факторів зовнішнього середовища (плеоморфізм). Структурні елементи мікоплазм надзвичайно легко руйнуються під час приготування препаратів для мікроскопії.

Хімічний склад мікоплазм складний. Вони містять, крім згаданих вище нуклеїнових кислот, білки, ліпіди, вуглеводи, мінеральні речовини.

Мікоплазми не утворюють спор, не мають джгутиків. Більшість їх нерухливі. Проте зустрічаються види, що здатні до так званого ковзаючого по поверхні переміщення (руху). Клітини видів мікоплазм, що мають спіралеподібну форму, здатні, вигинатись, обертатись та рухатись вперед.

У деяких видів виявляють капсули ліпідної, полісахаридної або ж ліпополісахаридної природи.

Фарбуються мікоплазми погано. Грамнегативні, за винятком представників роду спіроплазм. Для фарбування їх розроблені спеціальні методики на основі фарби Романовського-Гімза. Широко використовують вітальне фарбування цих мікроорганізмів за методом Дінеса.

Культуральні властивості. Більшість видів мікоплазм – факультативні анаероби. Проте є аероби та облігатні анаероби. Різноманітні вони також і за температурним оптимумом: крім мезофілів, зустрічаються як психрофіли, так і термофіли. Більшість патогенних для людини та тварин видів мікоплазм належать до мезофілів. Оптимальний показник рН середовища для різних видів мікоплазм коливається у межах 7,2-8,0. Проте деякі види потребують іншого рН середовища. Так, представники роду термоплазм найкраще розвиваються при рН 1-2. Культивують мікоплазми на спеціальних живильних середовищах. Зокрема, широко використовують середовища, виготовлені на основі хотингерівського ферментативного гідролізату тканини серця великої рогатої худоби та мартенівського – стінки шлунка свині. При культивуванні більшості патогенних мікоплазм у живильне середовище вносять 10-20 % сироватки крові коня, вівці чи іншої тварини, ЕК-стракт з дріжджів, інколи витяжки з тих органів і тканин, у яких локалізується мікоплазма — збудник захворювання. Розроблені й складніші живильні середовища, які містять добавки розчинних солей нуклеїнових кислот або їх попередників – амінокислоти, вітаміни.

З метою пригнічення можливого росту сторонніх мікроорганізмів до середовища часто додають пеніцилін, ацетат талію. Зрідка мікоплазми культивують на курячих ембріонах, що розвиваються, у клітинних культурах.

Характерною особливістю мікоплазм є утворення ними своєрідних колоній на щільному живильному середовищі. За формою вони круглі. Центральна частина колоній ущільнена, глибоко вростає у середовище. Периферійна частина тоненька, розміщена на поверхні середовища. Колонії мікоплазм більшості видів мають вигляд засмаженого на сковороді курячого яйця. Вони дрібні, ледь помітні неозброєним оком, діаметром 0,1-1,0 мм. Зустрічаються і значно менші. Так, Т-мікоплазми утворюють колонії, діаметр яких не перевищує 50 мкм. Поверхня їх може бути дрібнозернистою, майже гладенькою, або навпаки, крупнозернистою, шорсткою, що залежить від виду мікоплазми та інших факторів. Більшість мікоплазм утворює безбарвні прозорі колонії, проте є й такі, що формують колонії з коричневим відтінком.

У рідкому середовищі ріст мікоплазм, залежно від їх виду, адаптації до умов культивування може проявлятися від ледь помітної опалесценції до інтенсивного помутніння середовища. Деякі мікоплазми утворюють на поверхні останнього тоненьку плівку, інші – осад (пилеподібний, у вигляді пластивців або слизу).

Антигенна структура. Мікоплазми характеризуються складною антигенною структурою. Вони можуть мати видову та варіантну антигенну специфічність, які виявляють за допомогою РА, РЗК, РПГА та інших серологічних реакцій. Між різними видами мікоплазм інколи виявляються антигенні зв'язки. Антигенна активність більшості мікоплазм порівняно слабка, що потрібно враховувати при виготовленні біологічних препаратів та розробці схем імунізації тварин.

Патогенність. Серед мікоплазм зустрічаються сапрофіти, коменсали та паразити. Патогенні мікоплазми здатні тривалий час перебувати в організмі, зумовлюючи хронічний перебіг захворювання або латентну інфекцію. Однією з причин цього вважається те, що вони є досить слабкими антигенами. Фактори вірулентності у мікоплазм вивчені недостатньо. Лише у деяких видів виявлені фактори інвазивності чи токсичності. Так, у збудника респіраторного мікоплазмозу птиці виявлено екзотоксин нейрогенної дії. Ряд видів мікоплазм екскретують гемолізину. У збудника інфекційної плевропневмонії великої рогатої худоби виявлено галактан — речовину, надзвичайно подібну до ендотоксину грамнегативних бактерій. Основні види мікоплазм – збудників захворювань сільськогосподарських тварин, наведено у таблиці.

Резистентність. Більшість мікоплазм термолабільні. При 60 °С вони гинуть протягом 10-15 хв. Надзвичайно чутливі мікоплазми до висушування. Під дією більшості дезінфікуючих речовин у загальноприйнятих концентраціях, а також під дією сучасних мийних засобів (мила, мильні порошки) мікоплазми гинуть. Чутливі вони до антибіотиків тетрациклінового ряду, резистентні проти сульфаніламідних препаратів і особливо антибіотиків пеніцилінового ряду.

Тема лекційного заняття 7. Лабораторна діагностика мікозів та мікотоксикозів.

Мікози – це захворювання, обумовлені патогенними грибами, що паразитують в організмі. В процесі життєдіяльності вони екскретують ряд факторів, що пошкоджують тканини. Мікотоксикози обумовлюються токсинами (мікотоксинами), які можуть накопичуватись у кормі під час розмноження деяких видів грибів. Переважна більшість мікозів заразні. Мікотоксикози ж напакі, від хворої до здорової тварини не передаються ні під час прямих контактів ні опосередковано.

ЗБУДНИКИ МІКОЗІВ

Дерматомикози – захворювання грибної етіології, основними ознаками яких є ураження шкіри. В залежності від виду грибів-збудників розрізняють трихофітію, мікроскопію та пашу (фавус). Перші два захворювання надзвичайно подібні, тому називають їх стригучим лишаєм.

Збудники трихофітії – гриби роду *Trichophyton* (*Trichophyton faviforme*, (*syn.Trichophyton verrucosum*), *Trichophyton gypsum* (*syn.Trichophyton mentagrophytes*), *Trichophyton equinum*, *Trichophyton Sarcisovi*)

Морфологія. Морфологічні ознаки грибів в патологічному матеріалі та на поживних середовищах різні. В ураженій шкірі гриби знаходяться поряд з цибулиною волосини або ж проростають у волосину. В останньому випадку міцелій їх лежить прямими рядами вздовж волосини. Спори гриба круглі або овальні (3-8 мкм). При мікроскопії гриба, вирощеного на живильному середовищі, спостерігають септований міцелій, конідії (2 – 5 x 1,5 – 2,0 мкм.), виявляють також хламідоспори та розміщені ланцюжками артроспори.

Культуральні властивості. Гриби роду *Trichophyton* аероби, ростуть при температурі 23 – 30 °С на спеціальних живильних середовищах (агар Сабуро, сусло-агар та ін.), утворюючи колонії. Колоїї гриба *Trichophyton faviforme* шкірянисті, горбкуваті, складчасті, інколи оточені борошнистою зоною, формуються на 10 – 30 добу після посіву. Колонії гриба *Trichophyton gypsum* на агарі Сабуро білі, борошністі, інколи з помітним гудзикоподібним підвищенням у центрі, з'являються на 4-5 добу культивування, на сусло-агарі – колонії білі, бархатисті, плоскі.

Стійкість. В уражених волосинах можуть залишатись життєздатними до 7 років, у гною – до 8 місяців. У воді, що кипить, гриби гинуть протягом 2 хвилин, при 60 °С – за 2 год. Розчини гідроксиду натрію (1 – 3%) вбивають їх протягом 20 – 30 хв., розчини формаліну (1 – 3%) – за 15 хв.

Патогенність. Трихофітія діагностується у великої та дрібної рогатої худоби, у коней, хутрових звірів, собак, котів та птахів. Інколи хворіють і люди. Сприйнятливі також лабораторні тварини – морські свинки, миші, пацюки. *Trichophyton faviforme* частіше вражає рогату худобу, зрідка – коней, собак, *Trichophyton gypsum* – хутрових звірів, собак, котів, морських свинок, інколи коней і велику рогату худобу, *Trichophyton equinum* – коней, *Trichophyton Sarcisovi* – верблюдів.

Збудники мікроспорії

Мікроспорія (*Microsporia*, мікроспороз) – хронічна висококонтагіозна грибкова хвороба котів, собак, хутрових звірів та коней, що характеризується осередковим поверхневим запаленням шкіри та обламванням на її уражених ділянках волосяного покриву, а іноді й кігтів. Сприйнятлива і людина, особливо діти.

Збудник хвороби – патогенні грибки з роду *Microsporum*: у коней – *M. equinum*, у собак, котів, кролів, хутрових звірів, морських свинок, мавп, свиней, оленів – *M. lanosum*, у котів, собак, свиней, телят, морських свинок, щурів, мишей – *M. gypseum*, у свиней – *M. nanum*. Спори всіх грибків мікроспорії надзвичайно стійкі в зовнішньому середовищі. В зскрібках зі шкіри та ураженому волоссі зберігаються до 5 років, у шерсті – до 7 років, гної та гноївці – до 8 міс. Стійкі до заморожування, висушування та дії прямого сонячного випромінювання. Вегетативні форми грибків руйнуються впродовж 15-30 хв. 1-3%-м розчином формальдегіду, 5-8%-м розчином лугів.

Морфологія. Міцелій грибів *Microsporum* прямий розгалужений, рідкими септами. Він розпадається на округлі, одноклітинні, різко заломлюючі світло, спори, які розміщуються мозаїчно всередині і на поверхні волосини, їх діаметр – 3 – 4,5 мкм. Утворюється велика кількість конідій овальної або грушоподібної форми.

Культуральні властивості. Гриб вважається швидкоростучим, на сусло-агарі. Агарі Сабуро та інших середовищах його ріст помітний уже на 5-й день. Колонії борошністі, пухнасті, плоскі, гладенькі, інколи зморшкуваті з радіальними борозенками (рис. 8.45).

Епізоотологія. Захворювання реєструється у всіх країнах світу. Найчастіше хворіють коти, собаки, коні, хутрові звірі, кролі; рідше вівці, коні, свині, олені, мавпи, щури, морські свинки, хижі звірі. Особливо небезпечними в підтриманні епізоотичного процесу є бездомні коти, собаки, а також гризуни.

Діагноз встановлюють на основі епізоотологічних, клінічних та мікроскопічних даних. Чітко виражені клінічні симптоми підтверджують мікроскопічними дослідженнями (так як при трихофітії). При огляді кореневої частини волосся, округленого білуватим чохлам, видно дрібні спори, мозаїчно розташовані навколо волосся. Для діагностики прихованої та стертої форм мікроскопії застосовують люміністентний метод. Під впливом ультрафіолетових променів ртутно-кварцевої лампи з фільтром “Вуда” вражене спорами волосся тварин дає ярко-зелене освітлення.

Лікування. Застосовуються тіж препарати, що і при трихофітії. Для лікування коней рекомендується мазь Ваганова (лізол – 30,0 г, дьоготь березовий – 50,0 г, сірчаний цвіт та АСД – фракція 3 по 100,0 г, вазелін – 800,0 г).

Профілактика. У зв'язку з відсутністю ефективних засобів профілактики мікроспорії особливу увагу слід приділяти виконанню загальних ветеринарно-санітарних правил.

Враховуючи, що виникненню і розповсюдженню мікроспорії серед сільськогосподарських тварин і хутрових звірів сприяють хворі кішки і собаки, а також і те, що до хвороби дуже сприйнятливі діти, весь комплекс профілактичних заходів координують з медичною службою. Особливо звертають на чітке дотримання обслуговуючим персоналом правил особистої гігієни.

Профілактичні заходи передбачають раннє виявлення, ізоляцію і знищення бродячих кішок і собак. Хворих домашніх тварин, а також собак цінних порід ізолюють і лікують. Неблагополучні приміщення дезінфікують лужним розчином формальдегіду, а клітки з годівницями дезінфікують вогнем паяльних ламп або сухим жаром при температурі 110 °С.

Збудники фавуса (парша)

Фавус – хронічний дерматомікоз, який проявляється формуванням дрібних і сухих сірувато-білих кірочок. Хворіють переважно птахи. Осередки ураження швидко поширюються, утворюючи суцільний наліт на гребені і на сережках і далі охоплюють пір'яні ділянки шкіри.

У кожній частині пера спори гриба формують білого кольору чохол, руйнують структуру пера, спричиняючи його випадання. *Збудником є гриби роду Achorion (синонім Trichophyton). Trichophyton gallinae* патогенний для птахів. *T. quinckeanaum* викликає фавус у мишей і пацюків, можуть заражатися домашні тварини та діти.

Морфологія. Гриби розміщуються по довжині волосини або у кірочках. Міцелій гриба тонкий, рідко септований, складається із прямокутних клітин, що мають двоконтурну оболонку. Спори округлої форми або мають вигляд багатогранника, розмір у них від 4 до 8 мкм, лежать групами або ланцюжками (рис. 8. 47).

Культуральні властивості. Гриби культивуються на агарі Сабуро, сусло-агарі та інших середовищах при температурі 25 – 30 °С. *Trichophyton gallinae* росте у вигляді білих, гладеньких, бархатистих колоній, які у старих культур стають зморшкуватими, борошністими, мають рожевий чи

малиновий колір. Під мікроскопом у культурі гриба видно спори, конідії і міцелій, який у дозрілому стані схожий на ланцюжки.

Стійкість. Гриб досить стійкий у зовнішньому середовищі. Для дезінфекції рекомендують 2-3 %-й розчин гідроокису натрію, 1 – 2%-й розчин фенолу, 5%-й креоліну, 20%-у суспензію свіжо гашеного вапна, лужний розчин формальдегіду (2%-й розчин формальдегіду на 1%-му розчині луку).

Патогенність. У природних умовах хворіють кури, індики, качки, дикі птахи. Коти, собаки, вівці, коні, мавпи хворіють рідко. Сприйнятливі білі миші, морські свинки, кролі. Люди хворіють у дитячому віці.

Патогенез. Джерелом збудника є хворі тварини. Зараження відбувається через ушкоджену шкіру, можливе зараження повітряно-крапельним шляхом.

Переносниками фавусу можуть бути кліщі, що паразитують у птахів, і гризуни – у ссавців. Інкубаційний період – від 5 до 30 днів.

Імунітет при фавусі не вивчений.

Біопрепарати не одержані, вживають загальних ветеринарно-санітарних заходів. Господарство вважається оздоровленим через 21 день після одужання останньої хворої тварини.

ЗБУДНИКИ МІКОТОКСИКОЗІВ

Найбільш поширеними мікотоксикозами є стахіботріотоксикоз, дендродохіотоксикоз, аспергілотоксикоз, фузаріотоксикоз та клавіцепстоксикоз.

Збудник стахіботріотоксикозу. Стахіботріотоксикоз – тяжке грибної природи отруєння, що характеризується некрозами слизових оболонок, геморагічним діатезом та втратою крові здатності до зсідання. Смертність сягає 100%. Етіологію хвороби розшифрували українські вчені П.Д. Ятель, В.Г., Дроботько, Д.Г. Кудлай, Ф.М.Пономаренко, К.І. Вертинський.

Збудник – *Stachibotris alternans*. Паразитуює на рослинах, виділяється з ґрунту. Інтенсивно росте на соломі, м'якуні, сіні, зерні, де й накопичуються його токсини. На поверхні уражених рослин при цьому візуально виявляється чорного кольору нашарування, що нагадує сажу. Розмноженню гриба сприяє підвищена вологість корму, відсутність впливу денного світла.

Морфологія. Гриб міцеліальний. Міцелій септований. На спороносних гіфках розташовані конідієносці довжиною близько 50 мкм, на вершинах яких знаходяться стеригми з конідіями. Останні крупні (6 – 8 мкм x 8 – 12 мкм) темно-коричневі або чорного кольору, вкриті грубою оболонкою з шипами.

Культивування. *Stachibotris alternans* успішно культивують на середовищі Чапека, агарі Сабура, сусло-агарі та ін. Збудник успішно розвивається і на звичайному, добре зволоженому фільтрувальному папері. Оптимальна для росту температура становить 20 – 27 °С. ознаки росту з'являються приблизно через 5 – 10 діб після посіву. На поверхні щільного середовища утворюються бархатисті від темно-сірого до чорного кольору колонії. Поверхня колоній може бути складчастою з радіальними бороздками. При рості токсичних штамів середовище навколо колоній має бурий чи темно-вишневий колір.

Стійкість. Спори гриба можуть зберігатись у ґрунті до 6 міс. та, при наявності відповідних умов, проростати. Збудник відносно резистентний до дезінфікуючих засобів. Під дією 2%-го розчину гідроксиду натрію він інактивується протягом години, 2 -%-го розчину фенолу та 5%-го розчину аміаку – за 30 хв.

Патогенність. Фактори інвазивності у *Stachibotris alternans* відсутні. Його токсин – стахіботріотоксин належить до стероїдів, стійкий до висушування та нагрівання, рентгенівських та ультрафіолетових променів. За дії текучої пари протягом 5 – 10 годин токсичність гриба дещо послаблюється. Ін активується токсин автоклавуванням при 2,5 атм протягом трьох годин. Автоклавування ураженого грибом корму при 112 °С повністю знищує токсичні його властивості протягом 2-х годин. Токсин нейтралізується також 0,5%-м розчином гідроксиду натру, 2-5%-м формальдегідом та 5%-ю суспензією вапна.

При нанесенні на шкіру токсин обумовлює місцеве запалення, а всмоктавшись у кров – генералізований процес. Вже через кілька годин після попадання в організм токсин вражає центральну нервову систему. Діє і периферичну нервову систему, на паренхіматозні органи, обумовлює лейкопенію та тромбоцитопенію. В результаті нейротоксичної дії виникають некрози на слизовій оболонці рота, у товстому відділі кишечника. В результаті глибоких біохімічних змін у крові вона втрачає здатність до згортання. Результатом ураження стінок судин є геморагічний діатез. Перебіг захворювання частіше гострий чи підгострий. У першому випадку відмічають пригнічення, підвищення температура тіла до 40 – 41°C, численні крововиливи та ін. При під гострому –

спостерігають ураження слизової оболонки рота, носа та очей. Навколо рота, на підборідді та крилах носа шкіра запалена, в куточках рота з'являються глибокі тріщини.

Діагностика. Діагноз на стахіботріотоксикоз ставлять за результатами епізоотологічного аналізу, клінічних та патологоанатомічних даних та лабораторних досліджень. В лабораторії досліджують кров, визначають ретракцію згустка та враховують кількість лейкоцитів. Затримка ретракції згустку (у порівнянні з контролем) та лейкопенія свідчать про отруєння стахіботріотоксином. Заключний діагноз ставлять після виявлення збудника у кормі чи патологічному матеріалі та підтвердження його токсигенності у біопробі (шкірна проба на кролях).

Збудник дендродохіотоксикозу

Дендродохіотоксикоз – мікотоксикоз, обумовлений грибом *Dendrodochium toxicum*, що належить до незавершених грибів *Fungi imperfecti*. Захворювання вперше зареєстрували М.М.Підоплічко та В.І.Білай (1939). Вони виділили збудника та ідентифікували його.

Морфологія. *Dendrodochium toxicum*, має безбарвний септований міцелій, від якого відходять конідієносці. Конідії яйце- або еліпсоподібної форми, довжиною 6,4 – 9,2 мкм. Від блідо-зеленкуватого до темно-маслинового кольору. Збудник сапрофіт. При температурі біля 25 °С та вологості 50% гриб інтенсивно розмножується на кормах, що містять клітковину, утворюючи спородохії, які вигляд колоній з темно-маслиновим центром. Часто знаходять його на соломі, полові, м'якуні, рідше у сіні та ін.

Культуральні властивості. Росте в аеробних умовах при температурі 20 – 25 оС, рН 6,0 – 7,0, вологості біля 50%. Добре росте на сусло-агарі Чапека, агарі Сабуро та ін. На 3 – 5 добу після посіву формує круглі колонії з пухнастим білим міцелієм, центр яких поступово забарвлюється у чорний колір.

Розмножуючись на штучних живильних середовищах чи на кормах, *Dendrodochium toxicum* утворює токсини. Вони являють собою цитоплазматичну отруту з високим ступенем токсичності не лише для тварин, а й для рослин. Максимум токсинів у субстраті виявляють на 10 – 15 добу інкубації. Токсини накопичуються у міцелії та конідіях гриба, легко екстрагуються водою, спиртом, ефіром.

Стійкість Гриб нестійкий. Його спори гинуть від 2%-го формаліну протягом 2-х хвилин. Токсини гриба значно стійкіші. Автоклавування протягом години при 121 °С не інактивує токсичність корму.

Патогенність. Токсини гриба викликають отруєння у коней, овець, собак, котів, курей. В залежності від кількості з'їденого ураженого грибом корму. Перебіг хвороби може бути гострим чи підгострим. В разі гострого перебігу тварини гинуть протягом 12 – 24 годин після отруєння. Зрідка спостерігається і блискавична смерть, без прояву клінічних ознак. У коней через 15 – 16 годин після поїдання контамінованого корму спостерігають пригнічення серцевої діяльності, тахікардію, аритмію, загальну слабкість, кольки. У крові фіксують нейтрофільний лейкоцитоз, сповільнення осідання еритроцитів, підвищення концентрації гемоглобіну.

В разі напівгострого перебігу спостерігають запалення та вогнищевий некроз слизової рота, набрякання губ. У свиней часто спостерігають ураження п'ятачка носа. Він малорухливий, набряклий з наявністю виразок і тріщин.

Діагноз. Ставиться на основі клініко-епізоотичного обстеження, виділенні та ідентифікації збудника.

Збудник фузаріотоксикозу

Фузаріотоксикоз – мікотоксикоз, обумовлений токсигенними грибами з роду *Fusarium*, який належать до класу незавершених грибів (*Fungi imperfecti*).

Збудники: *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium nivale* та ін. (всього 18 видів), широко поширені в природі, уражають грубі, зернові та мучнисті корми, ростучі рослини, виявляються у ґрунті та воді.

Морфологія. Мають несептований міцелій білого чи ніжно-рожевого кольору. Повітряний міцелій містить мікроконідії кулястої, грушоподібної чи веретеноподібної форми, розміром 3-6 мкм. Характерними є макроконідії гриба – вони розташовані на конідієносцях або ж знаходяться у спорангіях та мають унікальну серпоподібну форму. Виявляються також численні хламідоспори.

Культуральні властивості. Ростуть в аеробних умовах. При температурі 18 – 24 °С на сусло-агарі, середовищі Чапека, картопляному агарі та ін. *Fusarium sporotrichioides* на картопляному агарі утворює пухкі, білого або ніжно-рожевого кольору колонії з слабо розвинутим повітряним міцелієм, на інших середовищах – колонії білого, червоного або фіолетового кольору з добре розвиненим повітряним міцелієм. У природних умовах фузарії інтенсивно ростуть на хлібних злаках, кормових культурах, різних плодах.

Патогенність. Гриби роду *Fusarium* продукують близько 10 різних токсинів, зокрема Т-2-токсин, зеараленон, бутенолід, фузаренон та ін. До токсинів фузарій чутливі всі види сільськогосподарських тварин, птахи, а також людина. Накопичення токсинів у кормах найбільш інтенсивно відбувається при високій їх вологості та пониженій температурі (1,5 –4,0 °С). Після поїдання ураженого корму, токсини проникають у кров та вражають серцево-судинну і центральну нервову систему, нирки, печінку, обумовлюють запалення слизових оболонок, крововиливи, утворення виразок, некрозів. Інкубаційний період триває від кількох годин до 5 – 6 діб. У коней спостерігають втрату координації рухів, тремтіння окремих груп м'язів, потовиділення, пригнічення, розлади травлення, підвищена спрага, затруднене жування та ковтання, підвищену температуру до 40,2 °С. У інших тварин ознаки подібні. У свиней часто реєструють пронос, блювання, набрякання повік, виразковий стоматит, у великої рогатої худоби – підвищену збудливість, парези тазових кінцівок, атонію передшлунків, розлади з боку серцево-судинної системи.

Діагноз. Ставиться на основі результатів клініко-епізоотологічного аналізу, патолого-анатомічних ознак та результатів мікологічного і мікотоксикологічного дослідження кормів. Наявність токсинів у матеріалі визначають за допомогою біологічної проби (ставлять шкірну пробу на кролях, вводять підшкірно білим мишам, ін'єкують у борідку курям).

Збудники аспергілотоксикозів – мікотоксикози тварин. Аспергілотоксикоз (афлатоксикоз, аспергілофлавітоксикоз, аспергілофумігатотоксикоз, охратоксикоз) – широко розповсюджені отруєння різних видів тварин., обумовлені токсинами грибів з роду *Aspergillus* (*A.fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. clavatus* та ін.). Токсигенні аспергили широко поширені у природі, ростуть на відмерлих рослинах, грубих кормах, зерні, регулярно виділяються з ґрунту.

Патогенність. Здатні викликати мікози та мікотоксикози у різних видів тварин. Виділяють різні токсини, відомі як афлатоксини та охратоксини.

Афлатоксини (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) – складні органічні сполуки нагромаджуються у зернових кормах, насінні бавовнику при високій вологості повітря. Недостатній вентиляції приміщень. Охратоксини накопичуються частіше у вівсяному сінажі, силосі, соняшниковому лушпинні, сінному борошні.

Хвороба може мати гострий перебіг. При цьому характерними є ознаки ураження центральної нервової та серцево-судинної систем, а також пошкодження печінки, у якій порушується синтез нуклеїнових кислот і білків, що призводить до жирової дистрофії та відмирання гепатоцитів.

Діагноз ставлять на основі аналізу клініко-епізоотологічних даних, патолого-анатомічних ознак, а також мікологічного та мікотоксикологічного дослідження корму і патматеріалів.

Модуль 3. МІКРООРГАНІЗМИ У СИРОВИНІ ТА ГОТОВИХ ПРОДУКТАХ ХАРЧУВАННЯ. НОРМУВАННЯ ЯКОСТІ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

Тема лекційного заняття 1. Мікробіологія м'яса та м'ясних продуктів, ковбасних виробів і м'ясних консервів.

Анотація. Ендогенний та екзогенний шляхи обсіменіння м'яса мікроорганізмами. Мікрофлора охолодженого м'яса. Мікрофлора замороженого м'яса. Мікрофлора соленого м'яса. Мікрофлора ковбасних виробів (варених, напівкопчених, в'ялених, сирокочених). Джерела мікрофлори м'ясопродуктів, що консервуються. Зміни мікрофлори ковбасних виробів при зберіганні. Мікрофлора м'ясних консервів. Залишкова мікрофлора консервів та її вплив на якість продукту

Theme of the lecture session 1. Microbiology meat and meat products. Microbiology sausage and canned .

Abstract. Endogenous way meat contamination by microorganisms. Exogenous way meat contamination by microorganisms. Microflora of chilled meat. Microflora of frozen meat . Microflora salted meat . Microflora sausage (cooked, smoked, dried, smoked). Sources microflora of meat , preserved. Changes in microflora sausage during storage. Microflora of meat. Residual microflora canned and its effect on product quality.

Тема лекційного заняття 2. Мікробіологія риби, рибних продуктів і промислових безхребетних

Анотація: у лекції висвітлено особливості мікробіоценозу риб. Збудники основних інфекційних хвороб риби. Джерела мікробної забрудненості риби та рибопродуктів. Основні стадії посмертних змін риби. Хвороби риб бактеріальної, грибкової, вірусної природи. Антропоозонозні гельмінтози – інвазійні хвороби риб небезпечні для людини. Мікробіологічні основи обробки риби холодом і способи охолодження. Зміна мікрофлори риби під час соління, маринування. Вади соленої, в'яленої,

копченої риби

Тема лекційного заняття 2 Аннотація. Особенности микробиоценоза рыб. Возбудители основных инфекционных болезней рыбы. Источники микробной загрязненности рыбы и рыбопродуктов. Основные стадии посмертных изменений рыбы. Болезни рыб бактериальной, грибковой, вирусной природы. Антропоозоонозных гельминтозы - инвазионные болезни рыб опасные для человека. Микробиологические основы обработки рыбы холодом и способы охлаждения. Изменение микрофлоры рыбы во время соления, маринования. Пороки соленой, вяленой, копченой рыбы

Theme of the lecture session 3. Summary. Features of microbiocenosis of fish. Pathogens of the main infectious diseases of fish. Sources of microbial contamination of fish and fish products. The main stages of posthumous changes in fish. Diseases of fish bacterial, fungal, viral nature. Anthroosoosonous helminthiasis - invasive diseases of fish are dangerous to humans. Microbiological bases of fish processing by cold and methods of cooling. Changing the microflora of fish during pickle, marinating. Wade salted, dried, smoked fish

Тема лекційного заняття 3. Мікробіологія молока і кисломолочних продуктів

Анотація. Джерела первинної мікрофлори молока. Зміни кількісного та якісного складу мікрофлори молока під час його зберігання та транспортування. Вади молока мікробного походження. Мікрофлора кисломолочних продуктів. Мікрофлора масла. Мікрофлора сирів. Мікрофлора молочних консервів.

Тема лекційного заняття 3:Мікробіологія молока и кисломолочных продуктов

Аннотація. Источники первичной микрофлоры молока. Изменения количественного и качественного состава микрофлоры молока при его хранении и транспортировки. Пороки молока микробного происхождения. Микрофлора кисломолочных продуктов. Микрофлора масла. Микрофлора сыров. Микрофлора молочных консервов.

Theme of the lecture session 3. Microbiology of milk and dairy products Abstract. Sources of primary microflora of milk. Changes in the quantitative and qualitative composition of milk microflora during storage and transportation. Breast milk of microbial origin. Microflora of dairy products. Oil microflora. Cheeses microflora. Microflora of canned milk.

Тема лекційного заняття 4. Мікробіологія яєць та яйце продуктів. Харчові (аліментарні) захворювання

Анотація. Основною метою лекції є ознайомлення студентів із основними джерелами бактеріального обсіменіння яєць. Особливостями розвитку мікроорганізмів у яйці. Види бактеріального псування яєць. Зараження яєць патогенною мікрофлорою. Санітарно-гігієнічні вимоги при виробництві яєць і яйце продуктів. Санітарно-мікробіологічний контроль яйце продуктів. Збудники харчових токсикозів і токсикоінфекцій.

Аннотація. Основной целью лекции является ознакомление студентов с основными источниками бактериального обсеменения яиц. Особенности развития микроорганизмов в яйце. Виды бактериальной порчи яиц. Заражение яиц патогенной микрофлорой. Санитарно-гигиенические требования при производстве яиц и яйцепродуктов. Санитарно-микробиологический контроль яйце продуктов. Вобудители пищевых токсикозов и токсикоинфекций

Summary. The main aim of the lecture is to familiarize students with the main sources of bacterial contamination of eggs. Characteristics of the development of micro-organisms in the egg. Kinds of microbial spoilage eggs. Egg contamination food pathogens. Hygiene requirements in the production of eggs and egg products. Sanitary-microbiological control egg products. Pathogens of foodborne toxicosis and toxicoinfections.

