

Хронически больные пульмональным пастереллезом, особенно в субклинической форме, являясь реконвалесцентами группы риска – представляли наибольшую опасность в эпизоотическом плане, так как они выступали перманентно действующим резервуаром и источником патогенного возбудителя инфекции, и рассеивая его в окружающей среде опосредовали процесс инфицирования интактного поголовья, что приводило к возникновению, существованию и поддержанию стационарно действующего очага эндогенной пульмональной пастереллезной инфекции.

Для выяснения роли транспортного стресса в индукции экспоненциального размножения гемолитических пастерелл, поставили опыт на 12 здоровых телятах, у которых уже исследовали носовое отделяемое и сыворотку крови. Все они были серопозитивны по отношению к К-Аг *P. multocida*. Животных погрузили в крытый кузов грузовика и 45 мин возили по проселочным дорогам. Затем разместили в 2-х боксах вивария на кафедре терапии Крымского СХИ. Перевозка оказала значительный и негативный психофизиологический стресс, животные выглядели крайне испуганными и утомленными. Через 3 дня у 4-х телят развились признаки острой пневмонии. Двух телят не лечили и они через 2 недели были вынужденно убиты. На вскрытии установили катарально-фибринозную пневмонию и только из пораженных участков паренхимы легких рутинными методами изолировали культуры гемолитической пастереллы, непатогенных для белых мышей при подкожном заражении. Культуры были идентифицированы по комплексу морфо-тинкториальных, культуральных, биологических и биохимических признаков как *Mannheimia haemolytica*.

Культуры *M. haemolytica* ферментировали глюкозу, сахарозу, лактозу, декстрозу, мальтозу, ксилозу, фруктозу, галактозу, рафинозу, декстрин, маннит, сорбит, глицерин, инулин, не ферментировали рамнозу, арабинозу, маннозу, салицин, дульцит, не образовывали индол, не обладали уреазной активностью, не разжижали желатин и не сворачивали молоко. На агаре Мак-Конки росли, на кровяном агаре образовывали четкие зоны β-гемолиза.

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать обобщающее заключение о том, что возбудителем первичных бактериальных пневмоний является *P. multocida*, сероваров А и D, редко В и *M. haemolytica*. Дебютным механизмом для *P. multocida* являются биострессоры (в наблюдаемом случае ВПГ-3, вирус ИРТ и хламидии), а для *M. haemolytica* – транспортный стресс.

Кардинальным средством предотвращения пастереллезных пневмоний может быть только специфическая профилактика и терапия, направленные на создание иммунного поголовья, как экологически несостоятельной среды обитания для эндогенных микроорганизмов оппортунистического типа и разрыву эпизоотической цепи в третьем звене – отсутствие восприимчивых организмов.

Выводы. 1. Этиофактором первичных бактериальных пневмоний при стационарных условиях содержания является *P. multocida*. Биострессором, индуцирующим ее экспоненциальное размножение, выступают респираторные вирусы и хламидии, что приводит к возникновению пульмонального пастереллеза.

2. Транспортный стресс оказывает специфическое психо-физиологическое ингибирующее воздействие на иммунореактивность организма телят, индуцируя экспоненциальное размножение *M. haemolytica* в паренхиме легких, что приводит к развитию фатальной катарально-фибринозной пневмонии.

Список литературы

1. Факторні хвороби сільськогосподарських тварин [Текст] / В.П. Литвин [та ін.] ; за ред. В.П. Литвина, Л.С. Корнієнко. – Біла Церква, 2002. – С. 275–298.
2. Cross protection of a Mannheimia haemolytica A1 Lkt- Pasteurella multocida ΔhyaE bovine respiratory disease vaccine against experimental challenge with Mannheimia haemolytica A6 in calves [Text] / C.F. Crouch [et al.] // Vaccine. – 2012. – Vol. 30, №13. – P. 2320–2328.
3. Haemorrhagic septicemia [Text] // Manual of Diagnostic and Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Fifth Edition. – 2004. – Vol. 1. – P. 537–548.
4. Pasteurella multocida pneumonia: zoonotic transmission confirmed by molecular epidemiological analysis [Text] / S. Miyoshi [et al.] // Geriatr Gerontol Int. – 2012. – Vol. 12, № 1. – P. 159–163.

ETIOLOGIC STRUCTURE OF PULMONAL FORM OF PASTERELLEZU OF CALVES

Stegniy B.T.

National Scientific Centre «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkov

Sosnickiy A.I.

Lugansk National Agrarian University, Lugansk

P. multocida in the stationary terms of maintenance, after the action of biostressors - induce the pulmonalis form of endogenous pasteurellos. Mannheimia haemolytica after the protracted transporting results in development of catarrhal-fibrin pneumonia. Different stressors – ARVI and transporting, induce exponential reproduction of different microbes which cause alike pathologies, but they require different facilities of specific prophylaxis.

УДК 619:616.98: 636.2.082.4

ОБНАРУЖЕНИЕ ВИРУСОВ И БАКТЕРИЙ В ЗАМОРОЖЕННОЙ СПЕРМЕ ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ

Стегний Б.Т., Стеценко В.И., Кучерявенко Р.А., Герилович А.П., Болотин В.И., Павленко Л.Н.,
Кучерявенко В.В., Данилова И.С., Тукач И.В.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

Ветеринарно-санитарное качество замороженной спермы быков-производителей приобретает особое значение в связи с интенсивным внедрением в практику современного животноводства новейших биотехнологий воспроизводства животных и широким международным обменом генетическими ресурсами [1, 2].

Сперма быков-производителей может быть контаминирована вирусами и бактериями, попадающими в сперму, как из внешней среды, так и в основном из организма больных быков [5, 6, 7, 8].

Использование контаминированной спермы при искусственном осеменении может вызывать появление вирусных, бактериальных или вирус-бактериальных инфекций у животных, сопровождающихся эмбриональной смертностью пре- и постнатальной гибелью телят, бесплодием и яловостью коров.

Целью исследований было изучение контаминации глубоководной спермы племенных быков патогенными вирусами (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея) и бактериями (хламидиями).

Материалы и методы исследований. Замороженную сперму производителей в облицованных гранулах и в пайетах получали из хозяйств различных регионов Украины и доставляли в ННЦ «ИЭКВМ» в сосудах Дьюара при температуре -196 °С.

Сперму исследовали на общую микробную обсемененность и на наличие антигенов или генетического материала вирусов ИРТ, ВД и хламидий с помощью реакции иммунофлуоресценции (РИФ) [9] и полимеразной цепной реакции (ПЦР) [10], которые проводили в профильных лабораториях по ранее разработанным методикам.

Результаты исследований. В период с 2008 по май 2013 гг. с помощью РИФ и ПЦР исследовано 620 проб замороженной спермы племенных быков, из которых антиген или генетический материал вируса ИРТ-ИПВ содержали 3,7 % проб в РИФ и 4,3 % – в ПЦР, а антиген вируса ВД-БС – в 4,9 % и 10,3 % проб соответственно (табл. 1). Генетический материал хламидий по результатам ПЦР содержало 4,5 % проб. Эти данные существенно отличаются от результатов российских ученых, установивших инфицированность вирусом ИРТ замороженной спермы быков-производителей на уровне 29,9–37,4 % [11].

Таблица 1 – Результаты исследований в РИФ и ПЦР проб замороженной спермы быков-производителей за 2008-2013 гг. (n=620)

| Область | Всего | Выявлено положительных проб | | | | | | | | | | | |
|------------------|-------|-----------------------------|------|----|------|----------|-----|-----|------|----|------|----------|------|
| | | РИФ | | | | | | ПЦР | | | | | |
| | | ИРТ | | ВД | | Хламидии | | ИРТ | | ВД | | Хламидии | |
| | | п. | % | п. | % | п. | % | п. | % | п. | % | п. | % |
| Запорожская | 32 | 0 | - | 0 | - | н/и | н/и | 1 | 3,1 | 1 | 3,1 | 3 | 9,4 |
| Киевская | 110 | 1 | 0,9 | 0 | 0 | н/и | н/и | 2 | 1,8 | 2 | 1,8 | 0 | 0 |
| Полтавская | 68 | 9 | 13,2 | 0 | - | н/и | н/и | 9 | 13,2 | 0 | - | 10 | 14,8 |
| Днепропетровская | 85 | 8 | 9,4 | 10 | 11,7 | н/и | н/и | 4 | 4,7 | 10 | 11,7 | 3 | 3,5 |
| Харьковская | 325 | 5 | 1,5 | 21 | 6,5 | н/и | н/и | 11 | 3,4 | 51 | 15,7 | 12 | 3,7 |
| Всего | 620 | 23 | 3,7 | 31 | 4,9 | н/и | н/и | 27 | 4,3 | 64 | 10,3 | 28 | 4,5 |

Примечание: н/и – не исследовали; п. – проб

Таким образом, РИФ и ПЦР могут с успехом применяться для индикации вирусов и бактерий в замороженной сперме племенных быков. Причем ПЦР, как правило, позволяет получать более полные результаты, так как этот метод не требует наличия в исследуемом материале полноценного возбудителя, а лишь его генетический материал.

Выводы. 1. По результатам исследований 620-ти проб замороженной спермы быков-производителей (проведенных в 2008–2013 гг.) в РИФ и ПЦР антиген или генетический материал вируса ИРТ-ИПВ выявляли, соответственно, в 3,7 % и в 4,3 %, а антиген и генетический материал вируса ВД-БС – в 4,9 % и 10,3 % случаев. Генетический материал хламидий в ПЦР выявлен в 4,5 % проб.

2. В связи с возможностью контаминации замороженной спермы племенных быков патогенными вирусами или бактериями при разработке отечественного стандарта на замороженную сперму быков-производителей необходимо предусмотреть ее вирусологический и бактериологический контроль на ИРТ, ВД и хламидиоз с использованием принятых в международной практике методов лабораторной диагностики (РИФ, ПЦР, выделение и идентификация возбудителя).

Список литературы

1. Балашов, Н.Г. Контаминация спермы быков непатогенными микробами [Текст] / Н.Г. Балашов // Материалы межвуз. науч.-метод. конф. по акушерству, гинекологии, искусственному осеменению и патологии молочной железы с.-х. животных. – Ереван, 1971. – С. 19–21.
2. Балашов, Н.Г. Ветеринарно-санитарный контроль при международном обмене спермой [Текст] / Н.Г. Балашов // Докл. Советских учёных к XIX Всемирному конгрессу. – М., 1971. – С. 6–8.
3. Ветеринарно-санитарные требования к сперме при искусственном осеменении животных [Текст] / Н.Г. Балашов [и др.]. – М.: Колос, 1977. – С. 17.
4. Инструкция по организации и технологии работы станций и предприятий по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных [Текст]. – М.: Колос, 1981. – 170 с.
5. Гавриков, А.Н. О микробной загрязнённости семени быков [Текст] / А.Н. Гавриков, А.А. Шевченко, А.С. Филиппов // Животноводство. – 1971. – № 10. – С. 84–85.
6. Михайлов, Н.Н. Значение инфекционных факторов в этиологии бесплодия сельскохозяйственных животных [Текст] / Н.Н. Михайлов // Профилактика болезней с.-х. животных в промышленном животноводстве. – М., 1975. – С. 65–74.
7. Вирус-бактериальные инфекции в патологии воспроизводства крупного рогатого скота [Текст] / Н.П. Четчикова [и др.] // Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2009. – Вип. 92. – С. 515–521.
8. Изучение патогенеза и разработка комплексной системы мероприятий по профилактике и лечению смешанных инфекций крупного рогатого скота (ИРТ, ВД, хламидиоз) [Текст] / Н.П. Четчикова [и др.] // Вет. медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2011. – Вип. 95. – С. 139–142.
9. Четчикова, Н.П. Результаты комісійних випробувань наборів діагностикумів для реакції імунофлуоресценції при інфекційному ринотрахеїті та вірусній діарейі [Текст] / Н.П. Четчикова, Р.О. Кучерявенко, О.В. Стеценко // Вісн. Сумського ДАУ: наук.-метод. журнал. – 1999. – Вип. 4. – С. 197–199.
10. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини [Текст]: наук.-метод. посібник / Б. Т. Стегній [та ін.]; під заг. ред. Б. Т. Стегній та А. П. Геріловича. – Х.: ННЦ «ІЕКВМ», 2006. – 110 с.
11. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота [Текст] / А.Г. Глотов [и др.] / РАСХН, Сиб. отд.-ние, ГНУ ИЭВСиДВ. – Новосибирск: ИПЦ «Юпитер», 2006. – С. 196.

VIRUSES AND BACTERIA DETECTION IN FROZEN SEMEN OF BREEDING BULLS

Stegniy B.T., Stecenko V.I., Kucheryavenko R.A., Gerilovych A.P., Bolotin V.I., Pavlenko L.M., Kucheryavenko V.V., Danilova I.S., Tukan I.V.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkov

The paper presents the results of clinical and epidemiological survey of dairy and breeding farms in Eastern region of Ukraine, as well as bacteriological and virological investigations of frozen semen sires to advise potential virus and bacterial contamination. In total 620 samples of bovine frozen semen were studied by PCR and IFT, which made it possible to identify the antigen and the genetic material of the BVD and IBR viruses in 3.7 % and 4.3 % (IFT), 4.9 % and 10.3 % (PCR) of the samples, respectively.