

causes of positive tuberculin skin test in cattle in five farms, which are free from tuberculosis. These farms are located in different regions of Ukraine. Epizootological, clinical, allergical, pathoanatomical, bacteriological and biological methods were used including a pathological examination of biological material samples (lymph nodes and internal organs), Ziehl-Nielsen staining of smears during bacterioscopy. Samples of biological material were preliminary treated with a 6.0% solution of sulfuric acid and inoculated on selective nutrient medium for mycobacteria cultivation. As a result of conducted study 15 cultures of nontuberculous mycobacteria were isolated from samples of biological material from cattle. It was found that these isolates were represented by five mycobacterial species from four husbandry farms. There were *M. fortuitum*, *M. phlei*, *M. gordonae*, *M. smegmatis* and *M. scrofulaceum*. In addition, two cultures of *M. bovis* were isolated from one herd. The causes of allergic reactions to mycobacterial allergens were established by a complex method using systematic simultaneous-allergic studies in cattle herds. In addition, appropriate measures were taken to prevent the spread of tuberculosis infection in one livestock farm. A control over the welfare of cattle herds where sensitization to tuberculin is caused by atypical mycobacteria should be carried out using a tuberculin (PPD) for mammals and an allergen from atypical mycobacteria. It is necessary to conduct preventive wet disinfection of places where animals are kept by using disinfectants that ensure the devitalization of mycobacteria in the environment

Keywords: *Mycobacterium bovis*, nontuberculous mycobacteria

УДК 619:616.98-078:579.835.12.083.337:636.2

DOI 10.36016/VM-2020-106-10

ДІАГНОСТИКА ГЕНІТАЛЬНОГО КАМПІЛОБАКТЕРІОЗУ ЖУЙНИХ ЗА РЕАКЦІЇ ТРИВАЛОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ КОМПЛЕМЕНТУ В ГОСПОДАРСТВАХ УКРАЇНИ

Калініченко Т. В., Куценко В. А., Болотін В. І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: vbolotin@hotmail.de

У статті представлено інформацію щодо актуальності проблеми генітального кампілобактеріозу та, зокрема, його серологічної діагностики. Представлено результати визначення активності та специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів у реакції тривалого зв'язування комплекменту з комерційною позитивною сироваткою (Virion\Serion), а також з гомо- та гетерологічними сироватками. Показано результати аналізу епізоотичної ситуації щодо кампілобактеріозу серед сільськогосподарських тварин в Україні за 2019–2020 рр. Серологічний моніторинг на кампілобактеріоз з використанням РТЗК було проведено у 22 господарствах у 9 областях України. Усього було досліджено 727 проб сироваток крові від сільськогосподарських тварин (ВРХ та вівці). Загальна серопревалентність становила серед ВРХ 5,7 %, а серед вівцепоголів'я — 12,9 %. Показані результати свідчать про циркуляцію кампілобактерій підвидів *venerealis* та *fetus* серед поголів'я ВРХ та овець, що може бути причиною значних економічних збитків у господарствах

Ключові слова: епізоотична ситуація, велика рогата худоба, вівці

Інфекційні захворювання жуйних, які спричиняють безпліддя та аборти, завдають значних економічних збитків у всьому світі [1, 2]. Одним з важливих збудників при цьому вважають *Campylobacter fetus*, який є етіологічним чинником генітального кампілобактеріозу (вібріозу) та виділяється з абортіваних плодів з частотою від 1,8 до 13 % усіх випадків репродуктивних розладів у тварин [3, 4]. Уперше захворювання зареєстрували серед поголів'я ВРХ у Великій Британії в 1913 році під час з'ясування причин безпліддя, а починаючи з 1960 року воно набуло широкого поширення у всьому світі [5].

Збудники захворювання — грамнегативні рухливі бактерії з одним або двома полярними джгутиками та з мікроаерофільним типом дихання. Вид *Campylobacter fetus* включає підвиди *Campylobacter fetus* ssp. *fetus* (Cff) та *Campylobacter fetus* ssp. *venerealis* (Cfv) [6]. Перший є постійним резидентом кишківника ссавців і може спричинити спорадичні аборти у великій рогатій худобі та овець, а також системного захворювання у людей [7, 8]. Інфікування відбувається переважно статевим або фекально-оральним шляхом з подальшою бактеремією,

що згодом може призводити до вагітності, плацентиту й абортів [9]. *Cfv* є етіологічним чинником генітального кампілобактеріозу ВРХ з виключно статевим або вертикальним механізмом передачі збудника [6], наслідками чого стають масові абортів в господарствах.

Діагностика генітального кампілобактеріозу базується на виділенні збудника та його диференціації, проте бактеріологічний метод є тривалим і трудомістким, успішність якого залежить від правильного відбору зразків та умов їх транспортування до лабораторії [10]. Крім того, часто в господарствах проводять безсистемну антибіотикотерапію, що згодом негативно впливає на виділення кампілобактерій від тварин.

Як рутинні запропоновано серологічні методи: реакція пробіркової аглютинації, реакція зв'язування комплементу, імуноферментний аналіз, реакція імунофлюоресценції, дослідження вагінального слизу за допомогою реакції аглютинації [11, 12]. Як ефективний діагностичний метод добре себе зарекомендувала полімеразна ланцюгова реакція, особливо у разі дослідження зразків сперми та абортіваних плодів [13].

Виходячи зі звітності, представленої Всесвітньою організацією захисту здоров'я тварин (OIE), протягом 2019–2020 років генітальний кампілобактеріоз ВРХ був зареєстрований в Аргентині, Намібії, Бразилії, Канаді, Коста Ріці, США, Уругваї, Бангладеш, Франції, Ірландії, Великій Британії та Австралії [14]. В Україні дослідження щодо генітального кампілобактеріозу тварин майже не проводяться з огляду на відсутність надійних засобів діагностики, тому нами було запропоновано специфічні антигени для серологічного дослідження за допомогою реакції тривалого зв'язування комплементу, а також проведення відповідного скринінгу за їх допомогою в проблемних господарствах України.

Мета роботи. Визначити активність і специфічність виготовлених кампілобактеріозних антигенів та провести аналіз епізоотичної ситуації щодо поширення кампілобактеріозної інфекції серед жуйних на території України у 2019–2020 рр.

Матеріали та методи. Для проведення серологічних досліджень щодо кампілобактеріозу застосовували зразки антигенів, які було виготовлено з виробничих штамів LBV (*Cfv*) та LBF (*Cff*), у робочому титрі 1:20, а також позитивні гіперімунні кампілобактеріозні сироватки, одержані від кролів, комерційну кампілобактеріозну сироватку виробництва Virion\Serion, сироватки від інтактних тварин і позитивні гіперімунні сальмонельозну, бруцельозну, лістеріозну та інші сироватки.

Серологічний скринінг щодо кампілобактеріозів проводили упродовж 2019–2020 рр. у 22 господарствах Харківської, Полтавської, Сумської, Кіровоградської, Одеської, Хмельницької, Миколаївської, Житомирської та Дніпропетровської областей, в яких реєстрували репродуктивні розлади: вагітності, ендометрити, плацентити, прохолости, абортів на пізніх строках вагітності, народження нежиттєздатного молодняку. Було досліджено зразки сироватки крові ВРХ ($n = 455$) та овець ($n = 272$).

Результати досліджень. На першому етапі досліджень визначали специфічність та активність отриманих кампілобактеріозних антигенів. Для цього проводили випробування на панелі гетерологічних (від інтактних тварин, а також позитивні сироватки проти сальмонел, ієрсиній, бруцел та ін.) та гомологічних (позитивна гіперімунна сироватка *Cff* та *Cfv*) сироваток. Результати визначення специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів представлено в табл. 1.

За результатами досліджень встановлено, що виготовлені кампілобактеріозні антигени є специфічними, оскільки антиген *Cff* проявляє позитивну реакцію з комерційною (виробництва Serion/Virion) сироваткою у розведенні 1:120 (++) і з гомологічною гіперімунною сироваткою *Cff* у розведенні 1:180 (++) та негативну — з гетерологічними сироватками крові і з сироватками, отриманими від інтактних тварин. Стосовно антигена *Cfv*, то він також є специфічним, оскільки проявляє позитивну реакцію з гомологічною гіперімунною сироваткою *Cfv* у розведенні 1:140 та негативну реакцію з комерційною (виробництва Serion/Virion), сироватками від інтактних тварин та гетерологічними.

Для визначення епізоотичної ситуації щодо кампілобактеріозу у господарствах України було відібрано польові зразки сироваток крові від ВРХ та овець з 22 господарств 9 областей України та проведено дослідження 727 польових сироваток крові за допомогою РТЗК з кампілобактеріозними антигенами *Cff* та *Cfv*. Результати дослідження сироваток крові від ВРХ та овець за допомогою РТЗК наведено в табл. 2.

Таблиця 1 — Результати визначення специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів у РТЗК

Зразки сироваток	Зразки антигенів	
	<i>Cff</i>	<i>Cfv</i>
Позитивна гіперімунна сироватка (<i>Cff</i>)	1:180++	–
Позитивна гіперімунна сироватка (<i>Cfv</i>)	–	1:140+++
Позитивна кампілобактеріозна сироватка (Virion\Serion)	1:120++	–
Сироватка від інтактно́ї вівці	–	–
Сироватка від інтактно́ї корови	–	–
Сироватка позитивна сальмонельозна	–	–
Сироватка позитивна еширихіозна	–	–
Сироватка позитивна бруцельозна	–	–
Сироватка позитивна лістеріозна	–	1:5+
Сироватка позитивна хламідіозна	–	–
Сироватка позитивна бруцелаовісна	–	–
Гіперімунна сироватка <i>Y. enterocolitica</i> O:3	–	–
Гіперімунна сироватка <i>Y. enterocolitica</i> O:9	–	–

Таблиця 2 — Результати дослідження сироваток крові від ВРХ та овець за РТЗК щодо наявності антитіл проти кампілобактерій (*Cff* та *Cfv*) у господарствах України

Область	Кількість господарств	Кількість досліджених сироваток	Результати досліджень	
			позитивні	сумнівні
ВРХ щодо <i>Cfv</i>				
Харківська	4	212	11 (5,2 %)	2 (0,9 %)
Полтавська	3	93	6 (6,5 %)	1 (1,1 %)
Сумська	1	21	2 (9,5 %)	0
Кіровоградська	1	96	7 (7,3 %)	1 (1,0 %)
Одеська	2	24	0	0
Дніпропетровська	1	9	0	0
Разом	12	455	26 (5,7 %)	4 (0,9 %)
Вівці щодо <i>Cff</i>				
Харківська	1	34	8 (23,5 %)	1 (2,9 %)
Житомирська	2	56	6 (10,7 %)	2 (3,6 %)
Одеська	4	125	15 (12,0 %)	4 (3,2 %)
Миколаївська	2	42	5 (11,9 %)	2 (4,8 %)
Хмельницька	1	15	1 (6,67 %)	0
Разом	10	272	35 (12,9 %)	9 (3,3 %)

За період дослідження серопозитивних щодо кампілобактеріозу тварин було виявлено серед ВРХ у Харківській, Сумській, Полтавській, Кіровоградській та Дніпропетровській областях, а серед овець — у Харківській, Житомирській, Одеській, Миколаївській та Хмельницькій. За результатами цих досліджень серед ВРХ найбільшу частку (9,5 %) серопозитивних до *Cfv* тварин виявлено в Сумській області, проте як в Одеській та Дніпропетровській областях жодної позитивно або сумнівно реагуючої тварини не виявлено.

Серед вівцепоголів'я найбільшу частку (23,53 %) позитивно реагуючих тварин виявлено в Харківській області, а найменшу (6,67 %) — у Хмельницькій. Із результатів, наведених у табл. 2, видно, що загалом під час серологічного дослідження сироваток крові, відібраних від ВРХ, у РТЗК з кампілобактеріозним антигеном реагувало 26 (2,7 %) зразків, у яких виявляли специфічні проти кампілобактерій антитіла в діагностичних титрах 1:10 та вище. Разом з цим, у 4 (0,9 %) пробах сироваток крові від інших тварин цих господарств у РТЗК отримано сумнівний результат. Серед досліджених сироваток крові овець виявлено 35 (12,9 %) позитивних та 9 (3,3 %) сумнівних щодо наявності антитіл проти *Cff*.

Наведені результати свідчать про циркуляцію кампілобактерій підвиду *venerealis* серед поголів'я ВРХ та *fetus* — серед овець. Так, у господарствах, в яких виявлено циркуляцію

Campylobacter fetus, реєстрували яловість, аборти, вагініти, ендометрити або гибель новонароджених. Найбільш постійним симптомом захворювання є яловість за повторного запліднення. У господарствах, де встановлено викидні кампілобактеріозної етіології, виявляли вагініти не лише у тварин що абортували, але й у більшості тварин, які отелилися нормально. У випадках хронічного перебігу захворювання тварини тривалий час хворіють на вагініти, що проявляється помірною гіперемією статевих органів та є перешкодою для нормального запліднення.

Викидні у інфікованих *Campylobacter fetus* тварин можуть статися у різні терміни вагітності, проте найбільш характерними для даної інфекції є викидні у середньому періоді вагітності, а викидні, що стаються на ранніх строках, часто лишаються непоміченими, оскільки єдина ознака таких абортів — незначні слизові, іноді з невеликою кількістю крові, витоки.

В одному з господарств Харківської області спостерігали зараження одночасно хламідіозною та кампілобактеріозною інфекціями. Подвійна інфекція ускладнює перебіг кожного з двох захворювань, оскільки в даному випадку спостерігали значну кількість абортів як однієї, так і іншої етіології.

З огляду на відсутність патогномічних симптомів за генітального кампілобактеріозу, діагностика повинна ґрунтуватися на лабораторних методах дослідження. Складнощі під час виділення збудника від інфікованих тварин пов'язані, перш за все, з низьким виживанням кампілобактерій на поживних середовищах і контамінацією вторинною мікрофлорою [15]. З метою масового серологічного скринінгу тварин розроблено технологію отримання кампілобактеріозних антигенів для проведення РТЗК, специфічність і чутливість яких було доведено як на панелі референтних позитивних зразків, так і польовому матеріалі [16].

Висновки. 1. Визначення активності та специфічності виготовлених кампілобактеріозних антигенів показало їхню придатність для використання у реакції тривалого зв'язування комплекменту.

2. Проведення серологічного дослідження щодо генітального кампілобактеріозу в Україні дозволило встановити серопозитивність до кампілобактерій на рівні 5,7 % та 12,9 % серед ВРХ та овець відповідно.

3. З метою запобігання поширення кампілобактеріозу в Україні існує необхідність у проведенні постійного моніторингу поголів'я, а також контролю імпортованих у країну тварин і спермопродукції.

Список літератури

1. BonDurant R. H. Venereal diseases of cattle: natural history, diagnosis, and the role of vaccines in their control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2005. Vol. 21, No. 2. P. 383–408. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.03.002>
2. Garcia M. M., Eaglesome M. D., Rigby C. *Campylobacters* important in veterinary medicine. *The Veterinary Bulletin*. 1983. Vol. 53, No. 9. P. 793–818.
3. Anderson M. L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*. 2007. Vol. 68, No. 3. P. 474–486. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.001>.
4. Campero C. M. et al. Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Veterinary Research Communications*. 2003. Vol. 27, No. 5. P. 359–369. DOI: <https://doi.org/10.1023/a:1024754003432>.
5. Clark B. L. Review of bovine vibriosis. *Australian Veterinary Journal*. 1971. Vol. 47, No. 3. P. 103–107. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1971.tb14749.x>.
6. OIE (World Organisation for Animal Health). Chapter 2.4.4. Bovine genital campylobacteriosis (version adopted in May 2017). In: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. Paris: OIE, 2017. URL: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.04.04_BGC.pdf.
7. Véron M., Chatelain R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* Sebald and Véron and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1973. Vol. 23, No. 2. P. 122–134. DOI: <https://doi.org/10.1099/00207713-23-2-122>.
8. Wagenaar J. A. et al. *Campylobacter fetus* infections in humans: exposure and disease. *Clinical Infectious Diseases*. 2014. Vol. 58, No. 11. P. 1579–1586. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciu085>.
9. Silveira C. et al. Diagnosis of bovine genital campylobacteriosis in South America. *Frontiers in Veterinary Science*. 2018. Vol. 5. P. 321. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00321>.
10. Michi A. N. et al. A review of sexually transmitted bovine trichomoniasis and campylobacteriosis affecting cattle reproductive health. *Theriogenology*. 2016. Vol. 85, No. 5. P. 781–791. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.037>.

11. Repiso M. V. et al. Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for quantification of the humoral response of cattle vaccinated against *Campylobacter fetus*. *American Journal of Veterinary Research*. 2002. Vol. 63, No. 4. P. 586–590. DOI: <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.586>.
12. Truyers I. et al. Diagnosis and management of venereal campylobacteriosis in beef cattle. *BMC Veterinary Research*. 2014. Vol. 10. P. 280. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0280-x>.
13. Schulze F. et al. Identification of *Campylobacter fetus* subspecies by phenotypic differentiation and PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2006. Vol. 44, No. 6. P. 2019–2024. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02566-05>.
14. OIE (World Organisation for Animal Health). World Animal Health Information System. URL: <https://wahis.oie.int>.
15. Sheppard S. K. et al. *Campylobacter* genotypes from food animals, environmental sources and clinical disease in Scotland 2005/6. *International Journal of Food Microbiology*. 2009. Vol. 134, No. 1–2. P. 96–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.02.010>.
16. Драгуць С. С. та ін. Випробування експериментальних антигенів (*C. f. ssp. fetus*; *C. f. ssp. venerealis*) для серологічної діагностики кампілобактеріозу жуйних та інших тварин. *Ветеринарна медицина: міжвідом. темат. наук. зб.* 2017. Вип. 103. С. 109–115. URL: http://www.jvm.kharkov.ua/sbornik/103/2_26.pdf.

DIAGNOSIS OF BOVINE GENITAL CAMPILOBACTERIOSIS USING THE COLD COMPLEMENT FIXATION TEST IN UKRAINIAN FARMS

Kalinichenko T. V., Kutsenko V. A., Bolotin V. I.

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

*The article presents information on the relevance of the bovine genital campylobacteriosis problem and, in particular, its serological diagnosis. The results of determining the activity and specificity of the developed campylobacter antigens in the cold complement fixation test (cCFT) with commercial serum (Virion\Serion), as well as with a panel of homo- and heterologous sera are presented. The results of the analysis of the epizootic situation regarding campylobacteriosis among farm animals in Ukraine for 2019–2020 are shown. Serological monitoring for campylobacteriosis using cCFT was conducted in 22 farms from 9 regions of Ukraine. A total of 727 blood serum samples from cattle and sheep were examined. The overall prevalence of positive animals was 5.7% and 12.9% among cattle and sheep, respectively. These results indicate the circulation of *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis* and subspecies *fetus* among cattle and sheep, which can cause significant economic losses in farms*

Keywords: epizootic situation, cattle, sheep