



ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 578.831.31.083.2:619

И.Я. Строганова, А.А. Трухоненко, Е.Ю. Гуменная

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ МИКОПЛАЗМОЗОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ХОЗЯЙСТВАХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

В статье представлен анализ результатов исследований биологического материала крупного рогатого скота в полимеразной цепной реакции на микоплазмозы и вирусные болезни животных. Установлено распространение микоплазм в хозяйствах, неблагоприятных по вирусным болезням.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция (ПЦР), крупный рогатый скот (КРС), вирусы, микоплазмы.

I.Ya. Stroganova, A.A. Trukhonenko, E.Yu. Gumennaya

POLYMERASE CHAIN REACTION IN DIAGNOSIS OF THE CATTLE MYCOPLASMOSIS IN THE EASTERN SIBERIA ANIMAL FARMS

The analysis of the research results of the cattle biological material in the polymerase chain reaction on the animal mycoplasmosis and viral diseases is presented in the article. The spreading of mycoplasmata in the animal farms unfavorable on viral diseases is established.

Key words: polymerase chain reaction (PCR), cattle, viruses, mycoplasmata.

Введение. Микоплазмы широко распространены в природе и представляют большую группу патогенных и апатогенных микроорганизмов, имеющих общие морфологические и физиологические признаки. Они обнаружены у человека, животных, рыб, насекомых и растений [1].

В настоящее время открыты и описаны многие виды микоплазм, которые могут вызывать у животных заболевания различной тяжести – от острых форм течения болезни до бессимптомного переболевания. Чаще всего микоплазмы колонизируют у животных слизистые оболочки респираторного или генитального трактов, но отдельные виды способны вызывать септицемию и поражать внутренние органы. Некоторые виды микоплазм вызывают заболевание животных только в ассоциации с вирусами или бактериями [2, 3].

Часто микоплазмы от крупного рогатого скота, овец, коз, свиней, лошадей и птиц выделяются при поражении респираторных органов, мочеполового тракта, молочной железы, суставов и глаз. Микоплазмы некоторых видов, выделенных при определенной патологии, играют в ней основную роль как возбудитель контактной перипневмонии крупного рогатого скота, агалактии овец и коз, инфекционной плевропневмонии коз, энзоотической пневмонии свиней, респираторного микоплазмоза птиц. При других – микоплазмы являются по-видимому, сопутствующими или в ассоциации с другими микроорганизмами, в том числе с вирусами; вызывают патологические процессы [4, 5].

Микоплазмы – представители класса Mollicutes – являются самыми мелкими самореплицирующимися прокариотами. Они лишены ригидной клеточной стенки и ограничены цитоплазматической мембраной, что обуславливает специфику их морфологических и физиологических свойств, таких как полиморфизм, пластичность, осмотическая неустойчивость [2].

Отсутствие стенки клетки делает микоплазмы более чувствительными к окружающей среде, таким образом, у них низкая способность к выживанию вне тела животного. Их довольно легко уничтожить воздействием высокой температуры и дезинфектантами. Большинство используемых антибиотиков действуют на стенку клетки бактерии. В случае с микоплазмой данные антибиотики не эффективны. Наконец, отсутствие стенки клетки затрудняет распознавание микоплазм иммунной системы организма, поэтому обычно не наблюдается хорошая ответная иммунная реакция организма или выработка длительного иммунитета. Напротив, некоторые из клинических симптомов указывают на то, что организм заставляет работать иммунную систему против себя. Все это, учитывая большое количество видов микоплазм, осложняет разработку диагностических тест-систем, лечения и средств специфической профилактики микоплазмозов животных.

В последние годы редкие случаи микоплазмоза перерастают в проблему, с которой приходится считаться любому хозяйству независимо от формы собственности, вида животных, направленности, размера и географического расположения [6, 7].

Одним из новых методов диагностики микоплазмозов является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Метод ПЦР имеет несомненные преимущества: это высокочувствительный тест, который позволяет быстро получить результат, но сравнительно дорогостоящий [2, 8].

Несмотря на высокую степень изученности микоплазм, современных данных о распространении, диагностике, лечении и профилактике микоплазмозов сельскохозяйственных животных недостаточно.

Цель исследований. Анализ выявления микоплазм у крупного рогатого скота методом ПЦР в хозяйствах Восточной Сибири, неблагополучных по вирусным болезням.

Материалы и методы исследований. Проанализированы результаты исследований биоматериала, полученного от крупного рогатого скота за 2011–2013 гг.

Биологический материал получали от коров, быков, нетелей, первотелок, телят больных и вынужденно убитых, павших, подозреваемых в инфицировании из хозяйств Восточной Сибири молочного направления с различной концентрацией животных в них, чаще с вводом животных по импорту из других стран. Анализу подвергали результаты исследований сыворотки крови на вирусные инфекции КРС от невакцинированных животных.

Серологические исследования сыворотки крови КРС на инфекционный ринотрахеит (ИРТ) проводили набором эритроцитарного диагностикума для серодиагностики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) (ТУ-10-19-372-92); на вирусную диарею – болезнь слизистых оболочек (ВД-БС) – набором эритроцитарного диагностикума для серодиагностики вирусной диареи крупного рогатого скота в РНГА (ТУ-9388-020-00008464-99); на респираторно-синцитиальную (РС) инфекцию – набором для серодиагностики респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота в РНГА (ТУ-10-19-162-91); на аденовирусную инфекцию (АД) – набором эритроцитарного диагностикума для серодиагностики аденовирусной инфекции крупного рогатого скота в РНГА (ТУ-10-19-372-92); на парагрипп-3 (ПГ-3) в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) – набором (ТУ-10-19-84-89) (производитель диагностических наборов ООО «Агровет», г.Москва).

Антиген вирусов ВД-БС КРС и ротавирусного энтерита КРС методом иммуноферментного анализа в биоматериале проводили наборами «ВД-БС ИФА ВИЭВ» и «Рота- ИФА ВИЭВ» (производитель ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. Я.П.Коваленко»).

Исследование биоматериала на выявление генома вирусов, микоплазм, хламидий у крупного рогатого скота проводили при помощи тест-систем ПЦР:

- на ВД-БС, ИРТ – производители ФГУН ЦНИИЭ «Роспотребнадзор» и НПО «Нарвак»;
- на ПГ-3 – НПО «Нарвак»;
- на микоплазмоз и хламидиоз – ФГУН ЦНИИЭ «Роспотребнадзор».

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты серологических исследований сыворотки крови КРС на вирусные инфекции показали, что в 2011 году серопозитивность у коров к вирусам составила: ИРТ – 80,2 %; ВД-БС – 68,6; ПГ-3 – 96,5; РС – 80,2; АД – 53,5 %.

Серопозитивность у телят к вирусам составила: ИРТ – 80,9 %; ВД-БС – 38,1; ПГ-3 – 97,6; РС – 33,3; АД – 71,4 %.

Серопозитивность у телят 1–2 месяцев к вирусам составила: ИРТ – 30,0 %; ВД-БС – 40,0; ПГ-3 – 95,0; РС – 30,0; АД – 50,0 %.

Серопозитивность у быков к вирусам составила: ИРТ – 98,4 %; ВД-БС – 88,7; ПГ-3 – 88,7; РС – 96,8; АД – 66,1 %.

Сероконверсия к вирусам у коров составила: ИРТ – 90,7 %; ВД-БС – 41,7; ПГ-3 – 50,0; РС – 33,3; АД – 16,7; у телят – ИРТ – 40,5 %; ВД-БС – 37,8; ПГ-3 – 45,9; РС – 54,1; АД – 35,1 %.

Результаты серологических исследований КРС в 2012 году показали, что серопозитивность у коров к вирусам составила: ИРТ – 57,3 %; ВД-БС – 46,3; ПГ-3 – 97,8; РС – 89,0; АД – 35,4 %.

Сероконверсия у коров к вирусам составила: ИРТ – 43,8 %; ВД-БС – 12,5; ПГ-3 – 93,8; РС – 31,3; АД – 37,5 %.

Сероконверсия к вирусам у телят составила: ИРТ – 20,0 %; ВД-БС – 25,7; ПГ-3 – 54,3; РС – 28,6; АД – 14,3 %.

Результаты серологических исследований КРС в 2013 году показали, что серопозитивность к вирусам у коров составила: ИРТ – 67,7 %; ВД-БС – 89,2; ПГ-3 – 99,0; РС – 80,0; АД – 52,3 %.

У телят серопозитивность к вирусам составила: ИРТ – 12,5 %; ВД-БС – 31,3; ПГ-3 – 99,0; РС – 50,0; АД – 18,8 %. А сероконверсия к вирусам составила: ИРТ – 25,8 %; ВД-БС – 6,5; ПГ-3 – 35,5; РС – 41,9; АД – 29,0 %.

Антигены вирусов ВД-БС и ротавирусной инфекции (РВИ) КРС в пробах фекалий в ИФА выявлены соответственно в 15,4 и 42,3 %.

Анализ результатов исследований биоматериала КРС в ПЦР за 2011 г. Геном вируса ИРТ был выявлен в 25,0 % проб, в основном из спермы быков. Геном к вирусу ВД-БС – не выявлен. Геном хламидий в биоматериале – не выявлен.

В 2012 г. антигены вирусов ВД-БС и РВИ КРС в биоматериале в ИФА выявлены соответственно в 37,5 и 47,5 % у импортированных нетелей. Геном вирусов КРС в ПЦР был выявлен: ИРТ – 32,1 %; ПГ-3 – 1,6 %. Геном хламидий в ПЦР выявлен в 2,8 % проб биоматериала.

В 2013 г. антигены вирусов ВД-БС и РВИ КРС в ИФА выявлены соответственно в 25,0 и 16,7 %.

Геном вирусов КРС в ПЦР был выявлен: ИРТ – 1,6 %; ПГ-3 – 9,5 %. Геном хламидий в ПЦР был выявлен в 4,8 %. Геном вируса ВД-БС в ПЦР не выявлен.

Таким образом, анализ результатов исследований биоматериала (серологических, ИФА и ПЦР) за 2011–2013 гг. позволил установить циркуляцию вирусов КРС – ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, РС, АД, а также установить этиологическую роль вирусов ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, РС и Рота в возникновении вирусных инфекций в животноводческих хозяйствах Восточной Сибири.

На фоне вирусных инфекций отмечено появление хламидиоза (2,8 и 4,8 %).

Результаты исследований биоматериала в ПЦР на микоплазмоз за 2011–2013 гг., %

Год	Быки	Коровы	Телята
2011	66,7	52,8	100
2012	100	45,4	80
2013	17,1	71,4	42,9

В результате исследований биоматериала в 2011 г. в ПЦР геном микоплазм был выявлен: у быков в 66,7 % (сперма); у коров в 52,8, в том числе сыворотка крови – 32,3; вагинальные смывы – 68,4; у телят в 100 % (сыворотка крови).

В 2012 г. в ПЦР геном микоплазм был выявлен у быков в 100 % (сперма, сыворотка крови, препуциальные смывы), у коров в 45,4; в том числе аборт – плоды – 16,7; сыворотка крови 45,7; экссудат из суставов – 25,0, вагинальные смывы – 100; у телят в 80 %, в том числе смывы со слизистой носа – 100, сыворотка крови 73,9 %.

В 2013 г. в ПЦР геном микоплазм был выявлен: у быков в 17,1%, в том числе сперма – 12,1; препуциальные смывы – 37,5 %; у коров в 71,4 % (аборт – плоды 50,0 %, вагинальные смывы – 98,2, сыворотка крови 24,1 %); у телят в 42,9 % (сыворотка крови – 36,4 %, смывы со слизистых носа и конъюнктивы – 47,4 %).

Таким образом, анализ результатов исследований биоматериала за 2011–2013 гг. в ПЦР на микоплазмоз показал, что на фоне циркуляции и активной циркуляции вирусов КРС ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, РС, РВИ установлено наличие микоплазменных инфекций в животноводческих хозяйствах Восточной Сибири.

У КРС микоплазмоз могут вызывать разные виды микоплазм. Для определения видовой принадлежности микоплазм необходимо культивирование и наличие видоспецифических сывороток, но этот процесс более длительный и трудоемкий по сравнению с ПЦР.

Полученные результаты исследований позволяют планировать комплекс оздоровительных и профилактических мероприятий в хозяйствах, неблагополучных по вирусным, хламидиозным и микоплазменным инфекциям КРС, но только с учетом в каждом случае направленности хозяйства, ввода животных и сложившейся эпизоотической ситуации по диагностированным болезням.

Выводы. В хозяйствах Восточной Сибири, неблагополучных по вирусным болезням крупного рогатого скота, таких как ИРТ, ВД-БС, ПГ-3, РС, РВИ, в ПЦР, установлены инфекции, вызванные микоплазмами крупного рогатого скота.

Литература

1. *Коромыслов Г.Ф., Месарош Я., Штипкович Л.* Микоплазмы в патологии животных. – М.: Агропромиздат, 1987. – 255 с.
2. *Инфекционная патология животных / А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Е.А. Непоклонов [и др.].* – М.: Академкнига, 2006. – Т.2. – 807 с.
3. *Вирусные и вирусно-бактериальные респираторные болезни молодняка крупного рогатого скота: науч.-практ.рекомендации / И.Я. Строганова, Т.И. Глотова, А.Г. Глотов [и др];* Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2011. – 26 с.

4. Микоплазмы и их роль в патологии сельскохозяйственных животных / Я.Р. Коваленко, Э.А. Шегидевич, И.Я. Яблонская [и др] // Труды ВИЭВ. – М., 1980. – Т.51. – С. 24–30.
5. Распространение вирусных и микоплазменных инфекций крупного рогатого скота в животноводческих хозяйствах Средней Сибири / И.Я. Строганова, А.Г. Хлыстунов, А.А. Трухоненко [и др] // Вестник КрасГАУ. – 2013. – № 8. – С. 41–43.
6. Naturally occurring *Mycoplasma bovis* associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves / M.I. Gagea [et al.] // J. of Veterinary Diagnostic Investigation. – 2010. – Vol. 10. – P. 1325.
7. *Mycoplasma bovis* infections in cattle / F.P. Maunsell [et al.] // J. Vet Inter Med. – 2011. – Vol. 25. – P. 772.
8. Detection of *Mycoplasma Bovis* in Milk Sample and Nasal Swabs Using the Polymerase Chain-Reaction / H. Hotzel [et al.] // J. of Appl. Bacteriology. – 1996. – V.80. – № 5. – P. 505–510.



УДК 619:616.995.132

Л.А. Глазунова

ТЕЛЯЗИОЗ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЯСНЫХ ПОРОД В СЕВЕРНОМ ЗАУРАЛЬЕ

Изучено распространение телязиоза у крупного рогатого скота мясных пород в Северном Зауралье. Определена сезонная и суточная динамика численности промежуточных хозяев телязий – зоофильных мух и влияние профилактических инсектицидных обработок на экстенсивность телязиозной инвазии.

Ключевые слова: телязии, зоофильные мухи, мясной скот, инсектицидные обработки.

L.A. Glazunova

THELAZIOSIS OF THE MEAT BREED CATTLE IN THE NORTHERN TRANS-URALS

Thelaziosis distribution of the meat breed cattle in the northern Trans-Urals is studied. The seasonal and daily dynamics of the number of the intermediate teleziahosts – zoophilous flies and the influence of the preventive insecticide treatment on the extensiveness of thelaziosis infestation is determined.

Key words: telezia, zoophilic flies, meat cattle, insecticide treatment.

Введение. Тюменская область является одним из крупнейших регионов Российской Федерации и составляющей частью Зауралья. Несмотря на северные широты, в которых расположена область, в ней развито сельское хозяйство, в том числе и животноводство. Пережив регресс, агропромышленный комплекс региона сегодня занимает лидирующие позиции по производству молока и мяса. Немаловажным фактором, способствующим росту производства в области, стало восполнение поголовья скота за счет приобретения животных из-за рубежа. Благодаря такой политике, в области стала возрождаться отрасль мясного скотоводства. Так, в 2002 году в Тюменский регион были ввезены первые 1300 голов крупного рогатого скота мясного направления из Франции, поголовье которого сегодня насчитывает более 10 тысяч особей [1].

Импортный скот подвергся значительному влиянию экологических факторов, но, несмотря на значительную разницу в климате, животные успешно адаптировались к суровым условиям в регионе, на что указывают высокие показатели воспроизводства коров 2-й генетико-экологической генерации [2, 3].

Помимо абиотических факторов, на ввезенных животных существенное влияние оказывали и биотические, среди которых доминировали паразитарные системы, достаточно широко представленные в Северном Зауралье [4, 5]. Одним из инвазионных заболеваний, имеющих широкое распространение в Тюменской области, является телязиоз [6, 7].

Телязиозы крупного рогатого скота – гельминтозные заболевания, вызванные паразитированием нематод подотряда Spirurata семейства Thelaziidae. Гельминты паразитируют в протоках слезной железы, слезно-носовом канале, под третьим веком и в конъюнктивальном мешке. Клиническое проявление телязиозов характеризуется развитием конъюнктивитов, кератоконъюнктивитов и язвой роговицы. Отсутствие лечения этого заболевания ведет к снижению привесов и надоев молока, а в запущенных случаях к потере зрения и, как следствие, к преждевременной выбраковке [8–10].