

*На правах рукописи*



**Свиридова Анна Николаевна**

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ТЕЛЯТ  
ПРИ МИКОПЛАЗМОЗ-АССОЦИИРОВАННОЙ  
ИНФЕКЦИИ**

16 00 03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук



Омск – 2007

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет»

Научный руководитель доктор ветеринарных наук профессор  
Красиков Александр Пантелеевич

Официальные оппоненты доктор биологических наук профессор  
Сидоров Геннадий Николаевич

доктор ветеринарных наук профессор  
Бажин Михаил Аристоклеви

Ведущее учреждение Институт экспериментальной ветеринарии  
Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН

Защита состоится 13 ноября 2007 г в 15<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 220 050 03 при ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет» в институте ветеринарной медицины по адресу 644122, г Омск-122, ул Октябрьская, 92, тел 24-15-35, факс 23-04-67

E-mail [ivm\\_omgau@omsknet.ru](mailto:ivm_omgau@omsknet.ru)

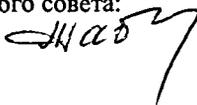
[www/ivm\\_omgau.ru](http://www/ivm_omgau.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке института ветеринарной медицины ОмГАУ

Автореферат разослан 6 октября 2007 г

Ученый секретарь диссертационного совета:

канд ветеринар наук доцент



Н П Жабин

## 1. Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Респираторные болезни телят, в последние годы, по заключению многих отечественных и зарубежных ученых, стали одним из главных препятствий на пути развития промышленного скотоводства. В органах дыхания телят и других животных обнаруживают значительное количество различных по видовому составу микоплазм, а также многокомпонентные системы (вирусы, бактерии), конечный эффект взаимодействия с которыми организма животного еще не раскрыт (П. М. Митрофанов, К. М. Хакимова, Х. З. Гаффаров, 1978, L. J. Kusiluka, В. О. Епун, N. F. Frus, 2000, В. Г. Ощепков, М. Н. Шадрин, Н. Н. Шкиль, 2000, 2001, А. П. Красиков, Н. В. Рудаков, Н. Н. Николаева, 2001, Н. Н. Новикова, 2002, О. А. Сунцова, 2004, В. Э. Малошевич, С. Б. Лыско, Н. Ф. Хатько, 2005, О. В. Вологодская, 2006)

Микоплазмоз крупного рогатого скота характеризуется у коров и нетелей развитием маститов, эндометритов, вульвовагинитов, сальпингитов, абортами, рождением слаборазвитых, зачастую недоношенных, нежизнеспособных телят, бесплодием. У быков он проявляется в виде орхитов и эпидидимитов, а у телят – кератоконъюнктивитами, ринитами, пневмониями и артритами.

Данная инфекционная болезнь наносит хозяйствам значительный экономический ущерб. Поэтому проблема микоплазмоза на сегодня весьма актуальна.

Одной из причин низкого выхода и гибели телят в хозяйствах Омской области является широкое распространение среди маточного поголовья коров урогенитального микоплазмоза в ассоциации с другими инфекциями (А. П. Красиков, О. В. Вологодская, 2004 - 2006, В. Э. Малошевич, 2005)

В связи с этим, актуальным является проведение массовых обследований молодняка крупного рогатого скота с применением экспресс-методов диагностики на микоплазмоз и его ассоциации с другими инфекционными болезнями. Это позволит своевременно профилактировать распространение микоплазмоза, выявлять сопутствующие инфекции и лечить телят. Все это послужило основанием для проведения данных исследований.

**Цель работы.** Усовершенствовать методы диагностики при микоплазмоз-ассоциированной инфекции и разработать методы лечения телят.

### **Задачи исследований:**

- установить ассоциативные формы проявления микоплазмоза у молодняка крупного рогатого скота и степень их распространения в хозяйствах Омской области,

- изучить культуральные, морфологические, биохимические и патогенные свойства выделенных от телят микоплазм,

- разработать и испытать в производственных условиях экспресс-методы диагностики и эффективные схемы лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции, дать им экономическое обоснование.

**Научная новизна.** Выявлена широкая распространенность в хозяйствах Омской области микоплазмоз-ассоциированной инфекции телят. Изучены основные свойства микоплазм, выделенных от молодняка крупного рогатого скота. Усовершенствованы экспресс-методы диагностики микоплазмоза: микробиологический – с помощью специальных питательных сред и серологические – для выявления ми-

коплазм и их антигенов в биоматериале и антител в сыворотке крови и бронхоальвеолярных смывах в РНИФ и РНГА

Получена приоритетная справка № 200 711 5734 / 13 (017092) от 25 04 07 на способ получения эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой геммагглютинации (РНГА) при микоплазмозе крупного рогатого скота

Разработаны научно-обоснованные рациональные схемы лечения телят разных возрастных групп при ассоциативном микоплазмозе и лабораторные методы контроля их эффективности

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Материалы диссертации вносят определенный вклад в развитие науки микоплазмологии и в изучение микропаразитоценозов респираторной системы телят, дополняя концепцию о полиэтиологической роли микроорганизмов, участвующих в инфекционном процессе ассоциативного характера. Результаты исследований являются основой для дальнейшего более глубокого изучения микропаразитоценозов других экологических ниш и систем организма животных

Использование эффективных рациональных схем лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции и экспресс-методов диагностики, которые отражены в методических рекомендациях «Комплексная система мер борьбы и профилактики с ассоциативными инфекционными болезнями животных» и «Диагностика и лечение при микоплазмоз-ассоциированной инфекции телят», ускорит сроки выявления больных животных, повысит сохранность телят, позволит контролировать эпизоотическую обстановку по данной инфекции

**Апробация работы.** Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» (Омск, 2005, СО РАСХН ВНИИБТЖ), научной конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2006 г «Научные и практические проблемы ветеринарной медицины, животноводства и перспективы их решения» (Омск, 2006), Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины продуктивных и непродуктивных животных» (Омск, 2006, СО РАСХН ВНИИБТЖ), Международной научной конференции «Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных» (Ульяновск УГСХА, 2006г), Международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ГНУ Краснодарского НИВИ «Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях» (Краснодар, 2006), Межрегиональной научно-практической конференции «Патология сельскохозяйственных животных и пути ее профилактики» (Омск, 2007, СО РАСХН ВНИИБТЖ), Международной научно-практической конференции, посвященной 45-летию Северо-Казхстанского НИИ животноводства и ветеринарии «Состояние и перспективы аграрной науки Казахстана и Западной Сибири» (Бишкек, 2007)

**Публикации результатов исследований.** По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 131 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложе-

ний, списка литературы и приложения Работа иллюстрирована 31 таблицей и 15 рисунками Список литературы включает 164 источника, в том числе 50 зарубежных авторов

**Внедрение результатов исследований.** Результаты исследований отражены в методических рекомендациях «Комплексная система мер борьбы и профилактики при ассоциативных инфекционных болезнях животных» (Утверждены Ученым советом ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, протокол № 1 от 29 09 2004 г и секцией животноводства Центра научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области от 08 10 2004 г, протокол № 5) и «Диагностика и лечение телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции» (Утверждены Ученым советом ИВМ ФГОУВПО ОмГАУ, протокол № 8 от 29 06 2007 г и секцией животноводства Центра научного обеспечения АПК Министерства сельского хозяйства и продовольствия Омской области от 13 09 2007 г, протокол № 7)

Материалы диссертации внедряются в хозяйствах Омской области и используются в учебном процессе кафедр эпизоотологии и инфекционных болезней, микробиологии, вирусологии и иммунологии института ветеринарной медицины ОмГАУ, институте повышения квалификации руководителей и специалистов АПК ОмГАУ, а также в курсе лекций Тюменского института переподготовки кадров агробизнеса

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- 1 Ассоциативные формы проявления микоплазмоза телят и степень его распространения в хозяйствах Омской области
- 2 Усовершенствованные экспресс-методы диагностики микоплазмоза телят
- 3 Результаты экспериментального изучения различных схем лечения и методы лабораторного контроля их эффективности при микоплазмоз - ассоциированной инфекции телят

## 2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материалы и методы

Исследования проводили с 2004 по 2007 год в лаборатории микстинфекций кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней ИВМ ОмГАУ, в лаборатории зоонозных инфекций НИИПОИ Роспотребнадзора и хозяйствах Омской области

Тема диссертационной работы является составной частью комплексной государственной программы «Профилактика (диагностика) и меры борьбы с ассоциативными инфекционными и инвазионными болезнями животных и птиц» (№ гос регистрации 01 2 001100602)

Объектом исследований были телята 0,5-4 месячного возраста с выраженными клиническими признаками пневмонии, артритов и конъюнктивитов

Материалом для исследований служили пробы сывороток крови, бронхоальвеолярных смывов, фекальных масс и слизи из прямой кишки, внутрисуставная жидкость, патологический материал от погибших телят и абортированных плодов

Для индикации и идентификации возбудителей применяли серологические и микробиологические методы. Окрашивание мазков проводили по Романовскому – Гимзе и Граму. Для серологических исследований применяли реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) – для обнаружения антител в сыворотке крови и бронхоальвеолярных смывах животных, реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) – для обнаружения антител и антигенов в пробах био- и патологического материала, полученного от погибших и вынужденно убитых животных.

Микробиологические исследования проводили, используя разработанные совместно с ФГУ Омского НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, жидкие и плотные питательные среды для индикации и идентификации микоплазм. Свойства выделенных микроорганизмов изучали по общепринятым методикам. Микроскопирование проводили при помощи светового микроскопа «Ломо» (x 900). Для видового определения микоплазм использовали ключ Gourlay and Howard (1979).

Для исследований применяли полученные нами микоплазмозные и стандартные антигены, используемые для постановки РА и РСК, а в качестве антител – гомологичные антигенам кроличьи и бычьи антисыворотки, антивидовые для РНИФ и специфические сальмонеллезные, листериозные для РПИФ люминесцентные сыворотки меченные ФИТЦ (ИЭМ им Н Ф Гамалеи), а также полученные нами кроличьи сыворотки против микоплазмоза, хламидиоза, ИРТ, диплококкоза, стафилококкоза и стрептококкоза.

Видоспецифические сыворотки к полевым штаммам микоплазм получали путем гипериммунизации кроликов по схеме D Schimmel, в модификации А П Красикова, Н Н Новиковой, (2000).

Мазки с нанесенными люминесцентными сыворотками просматривали под микроскопом ЛЮМ Р-8 при увеличении в 900 раз. Степень флуоресценции антител оценивали по 4-х крестной системе (Вайтекер и др., 1958). При приготовлении диагностикума для РНГА в качестве клеточной основы использовали эритроциты барана, а для стабилизации 20%-й р-р формальдегида. Фиксацию эритроцитов проводили по методу Фили в модификации Красикова А П (2002).

Исследования были направлены на выявление антигенов возбудителей ряда инфекционных болезней (микоплазмоз, сальмонеллез, пастереллез, хламидиоз, инфекционный ринотрахеит, лептоспироз, листериоз, диплококкоз, стрептококкоз, стафилококкоз, эшерихиоз) и вырабатываемых гомологичных специфических антигенов в респираторной, пищеварительной и кровеносной системах

Расчет экономической эффективности проводили по методике утвержденной Департаментом ветеринарии РФ от 21.02.97 г

Цифровые данные экспериментальных исследований обработаны методами математической статистики по Г.Ф. Лакину (1980) и с помощью программы Microsoft Excel

## **2.2. Изучение эпизоотической ситуации по микоплазмозу молодняка крупного рогатого скота и ассоциативным формам его проявления в хозяйствах Омской области**

При изучении эпизоотической ситуации по микоплазмозу телят и его ассоциативным формам были проведены комплексные обследования хозяйств с использованием эпизоотологического, клинического, бактериологического и серологических методов

По результатам исследований установили, что микоплазмоз-ассоциированная инфекция телят имеет широкое распространение в хозяйствах Омской области (табл. 1). При этом проявление микоплазмоза достоверно больше всех других инфекций ( $p < 0,001$ )

Наиболее насыщенный микробный пейзаж установлен в СПК «Украинский», где в различных сочетаниях выделяли возбудителей микоплазмоза и девяти других микроорганизмов у 50% обследованных животных

В ООО «Русский хлеб» микоплазмы были обнаружены у всех обследованных телят. При этом выделяли ассоциации возбудителей ИРТ, хламидиоза, пастереллеза, лептоспироза, диплококкоза, эшерихиоза и сальмонеллеза

Высокую степень микоплазмоза (100%) в ассоциации с другими микроорганизмами отмечали в Агрофирме «Кормиловская», СПК «Ермолаевское» и СПК «Новороссийский» (50%). В ОАО «Алексеевское» и ЗАО «Знамя» при высоком уровне микоплазмоза (100%), другие микроорганизмы выделили в минимальном количестве. В ряде хозяйств СПК «Россия», ЗАО им. «Розы Люксембург», Молзавод «Кормиловский», СПК «Некрасовский» микоплазмами было поражено меньшее количество животных - от 38 до 88%

Из проб патологического материала микоплазмы также выделяли в ассоциации с другими возбудителями в 33-83% случаев (табл. 2). При этом инфицированность патологического материала микоплазмами достоверно выше всех других инфекций ( $p < 0,01$ )

В органах абортированных плодов из СПК им. «Кирова» микоплазмы обнаруживали у 81% животных в ассоциации с хламидиями (33%), лептоспирами (17%), листериями (22%) и сальмонеллами (33%)

## Ассоциативные формы проявления микоплазмоза у телят в хозяйствах Омской области

| Хозяйства              | К-во ж-х | Инфицировано (%), М±m p < 0,001 |               |               |               |               |               |               |               |               |               |
|------------------------|----------|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                        |          | сал                             | пас           | хлам          | ИРТ           | леп           | лис           | дип           | стр           | ста           | мик           |
| Россия                 | 10       | 50,0±<br>15,8                   | -             | 70,0±<br>14,5 | -             | 70,0±<br>15,8 | 90,0±<br>9,5  | -             | -             | -             | 40,0±<br>15,5 |
| им Розы Люксембург     | 10       | 70,0±<br>14,5                   | 40,0±<br>15,5 | 40,0±<br>15,5 | -             | 70,0±<br>14,5 | 70,0±<br>14,5 | 100,0         | -             | -             | 50,0±<br>15,8 |
| Украинский             | 15       | 60,0±<br>12,6                   | 60,0±<br>12,6 | 58,0±<br>12,7 | 75,0±<br>11,2 | 53,0±<br>12,9 | 60,0±<br>12,6 | 40,0±<br>12,7 | -             | -             | 50,0±<br>12,9 |
| Русский хлеб           | 20       | 50,0±<br>11,2                   | 15,0±<br>7,8  | 40,0±<br>11,0 | 10,0±<br>6,7  | 20,0±<br>8,9  | 50,0±<br>11,2 | 60,0±<br>10,9 | -             | -             | 100,0         |
| Ермолаевское           | 10       | 40,0±<br>15,5                   | -             | 90,0±<br>9,5  | -             | 60,0±<br>15,5 | 50,0±<br>15,8 | 70,0±<br>14,5 | 50,0±<br>15,8 | 20,0±<br>12,6 | 100,0         |
| Алексеевское           | 7        | 35,0±<br>18,0                   | -             | -             | -             | 20,0±<br>15,1 | -             | -             | -             | 30,0±<br>17,3 | 100,0         |
| Знамя                  | 8        | -                               | -             | -             | -             | -             | -             | 13,0±<br>11,9 | -             | 13,0±<br>11,9 | 100,0         |
| Сосновское             | 6        | 32,0±<br>19,0                   | 33,0±<br>19,1 | 67,0±<br>19,2 | -             | -             | 17,0±<br>15,3 | 17,0±<br>15,3 | -             | -             | 50,0±<br>24,0 |
| Агрофирма Кормиловская | 8        | 60,0±<br>17,3                   | 20,0±<br>14,1 | 80,0±<br>14,1 | -             | 80,0±<br>14,1 | 80,0±<br>14,1 | 100,0         | -             | -             | 100,0         |
| Молзавод Кормиловский  | 9        | 11,0±<br>10,4                   | 11,0±<br>10,4 | 20,0±<br>13,3 | -             | 44,0±<br>16,5 | 33,0±<br>15,7 | 11,0±<br>10,4 | 33,0±<br>15,7 | -             | 88,0±<br>10,8 |
| Нива                   | 10       | -                               | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             |
| Новороссийское         | 10       | 10,0±<br>9,5                    | 20,0±<br>12,6 | 20,0±<br>12,6 | 30,0±<br>14,5 | 50,0±<br>15,8 | 40,0±<br>15,5 | 50,0±<br>15,8 | -             | -             | 50,0±<br>15,8 |
| им Кирова              | 10       | 10,0±<br>9,5                    | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | 100,0         |
| Технофарм              | 10       | -                               | -             | 10,0±<br>9,5  | -             | 20,0±<br>12,6 | 20,0±<br>12,6 | 10,0±<br>9,5  | -             | -             | -             |
| Новоарцино             | 10       | 70,0±<br>14,5                   | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             |
| Овцевод                | 5        | -                               | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             |
| Некрасовский           | 10       | -                               | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | -             | 80,0±<br>12,6 |
| Всего (17)             | 168      | 42,0±<br>3,8                    | 28,0±<br>3,5  | 50,0±<br>3,9  | 38,0±<br>3,7  | 49,0±<br>3,9  | 51,0±<br>3,9  | 47,0±<br>3,8  | 42,0±<br>3,8  | 21,0±<br>3,1  | 77,0±<br>3,2  |

Примечание сал - сальмонеллы, пас - пастереллы, хлам - хламидии, ИРТ - вирус инфекционного ринотрахеита, леп - лептоспиры, лис - листерии, дип - диплококки, стр - стрептококки, ста - стафилококки, мик - микоплазмы

Таким образом, по результатам эпизоотологического обследования хозяйств Омской области установлено, что микоплазмоз телят имеет широкое распространение. Из 17 обследованных хозяйств с высоким уровнем гибели телят, микоплазмоз отсутствовал только в четырех, при этом в виде моноинфекции данную болезнь не регистрировали.

Таблица 2

**Изучение инфицированности патологического материала от погибших или  
вынужденно убитых телят и абортированных плодов\* в РНИФ**

| №<br>п п | Хозяйства             | К-во<br>ж-х | Инфицировано (%), $M \pm m$ $p < 0,01$ |               |               |               |               |               |               |
|----------|-----------------------|-------------|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|          |                       |             | сал                                    | пас           | хлам          | ИРТ           | леп           | лис           | мик           |
| 1        | Солнцево              | 6           | -                                      | 33,0<br>±19,0 | -             | -             | 33,0<br>±19,2 | 17,0<br>±15,3 | -             |
| 2        | Знамя                 | 6           | -                                      | -             | -             | -             | -             | -             | 83,0<br>±15,3 |
| 3        | им Розы<br>Люксембург | 24          | 35,0<br>±9,7                           | 15,0<br>±7,3  | 40,0<br>±10,0 | -             | 50,0<br>±10,2 | 75,0<br>±8,8  | 75,0<br>±8,8  |
| 4        | им Кирова             | 24          | 25,0<br>±8,8                           | 19,0<br>±8,0  | 31,0<br>±9,4  | -             | 6,0<br>±4,8   | 31,0<br>±9,4  | 66,0<br>±9,7  |
| 4 1      | им Кирова*            | 18          | 33,0<br>±11,1                          | -             | 33,0<br>±11,1 | -             | 17,0<br>±8,8  | 22,0<br>±9,8  | 81,0<br>±9,2  |
| 5        | Георгиевское          | 6           | -                                      | -             | -             | -             | -             | 25,0<br>±17,7 | 33,0<br>±19,2 |
| 6        | Сосновское            | 3           | -                                      | 33,0<br>±11,1 | 42,0<br>±11,6 | 50,0<br>±11,8 | -             | 16,0<br>±18,6 | 39,0<br>±11,5 |
| 7        | Русский хлеб          | 6           | -                                      | 100,0         | 33,0<br>±19,2 | -             | -             | 33,0<br>±19,2 | 33,0<br>±19,2 |
| 8        | Россия                | 18          | -                                      | 39,0<br>±11,5 | 22,0<br>±9,8  | -             | 33,0<br>±11,5 | 11,0<br>±7,4  | 43,0<br>±11,7 |
|          | Всего                 | 126         | 31,0<br>±4,1                           | 39,0<br>±4,3  | 33,5<br>±4,2  | 50,0<br>±4,5  | 27,0<br>±3,9  | 28,0<br>±4,0  | 56,0<br>±4,4  |

### 2.3. Диагностика микоплазмоза

#### 2.3.1. Микробиологические методы диагностики микоплазмоза молодняка КРС

##### 2.3.1.1. Индикация и идентификация микоплазм на питательных средах

При проведении микробиологического метода диагностики микоплазмоза на питательных средах исследовали бронхоальвеолярную слизь, суставную и конъюнктивальную жидкости, патологический материал от погибших телят и абортированных плодов. С этой целью использовали жидкие и плотные элективные питательные среды для индикации и идентификации микоплазм.

Рост микоплазм на жидких питательных средах при 37 °С в течение трех суток наблюдали визуально. При наличии микоплазм в исследуемом материале происходил сдвиг рН питательной среды, изменялся ее цвет, обусловленный индикатором. Гибель сопутствующей микрофлоры осуществлялась под воздействием ингибиторов, входящих в состав питательной среды. По ферментации глюкозы, аргинина или мочевины идентифицировали выделенные микоплазмы на глюкозо-, аргининзависимые и уреоплазмы.

В последующем для изучения культуральных свойств микоплазм, культуры пересевали на плотные диагностические среды, содержащие 1,3% агара Дифко. Для

этого 0,1 мл исследуемой культуры микоплазм вносили пастеровской пипеткой или стерильным одноразовым шприцем на поверхность агара и подсушивали при комнатной температуре. Инкубацию посевов проводили при 37-38 °С в течение 5 сут. За ростом микоплазм наблюдали, просматривая чашки Петри под малым увеличением микроскопа (х 45-70). На плотной среде отмечали рост типичных колоний микоплазм округлой формы, несливающихся друг с другом с выступающим в агар центром и нежной периферией.

## **2.3. 2. Основные биологические свойства микоплазм**

### **2.3. 2.1. Морфологические свойства**

Тинкториальные и морфологические свойства микоплазм изучали микроскопическим методом. Для этого из трехсуточных культур готовили мазки, высушивали на воздухе, фиксировали метиловым спиртом в течение 5 мин и окрашивали по Романовскому – Гимзе 60 мин при 37 °С. Промывали и просматривали мазок под иммерсией. Наблюдали преимущественно кокки и овоидно-перстневидные формы микоплазм (0,3-0,5 мкм) сине-фиолетового цвета, а также палочки (2-5 мкм), скопления зернистой массы с включениями микроструктурных элементов.

### **2.3.2.2. Биохимические свойства**

Принадлежность выделенных культур к микоплазмам определяли по основным биохимическим свойствам: разложение глюкозы, аргинина, мочевины, культивируя их на жидких и плотных селективных диагностических питательных средах. Определяя видовую идентификацию микоплазм по ключу Gourlay and Howard (1979), изучали протеолитическую активность, редукцию тетразоля, потребность в холестерине, дигитонинчувствительность и рост при 22 °С.

Микоплазмы *M. arginini* и *Ureaplasma* sp., выделенные из проб от телят с клиническими признаками в хозяйствах Омской области, были аналогичны ранее выделенным от коров родильно-профилактического периода, что свидетельствует о передаче возбудителей от коров-матерей телятам. Дополнительно был выделен вид *M. bovirhinis* (табл. 3).

Основные свойства микоплазм, выделенных у телят

| Род и вид            | Ферментация глюкозы | Гидролиз аргинина | Уреазная активность | Пленка и пятна | Редукция тетразола | Потребность в холестерине | Дигитонин чувствительность | Протеолитическая активность | Рост при 22°C |
|----------------------|---------------------|-------------------|---------------------|----------------|--------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------|
| <i>M bovirhinis</i>  | +                   | -                 | -                   | -              | +                  | +                         | +                          | +                           | -             |
| <i>M arginini</i>    | -                   | +                 | -                   | -              | -                  | +                         | +                          | +                           | -             |
| <i>Ureaplasma sp</i> | -                   | -                 | +                   | -              | -                  | +                         | +                          | +                           | -             |

### 2. 3. 2. 3. Патогенные свойства

Патогенность штаммов микоплазм, выделенных от телят в хозяйствах Омской области, изучали на белых мышах. Для этого использовали полевые штаммы *M bovirhinis*, *M arginini*, *Ureaplasma sp*.

В опыт взяли 20 белых мышей массой по 20 граммов, которых разделили на 4 группы, три опытных и одна контрольная (интактная), по пять голов в каждой группе. Культуры микоплазм вводили внутрибрюшинно, однократно в объеме 0,5 мл. На второй день после заражения наступила гибель всех мышей. Мыши контрольной группы были девитализированы на десятые сутки.

При бактериологическом исследовании микоплазмы были обнаружены в опытных группах у всех животных. В патологическом материале из паренхиматозных органов мышей контрольной группы микоплазмы не были выделены. Результаты проведенного опыта подтверждают высокую патогенность, изолированных от телят микоплазм. При 100%-ной летальности степень инфицированности органов *M bovirhinis* составила 96%, *M arginini* – 92%, *Ureaplasma sp* – 100%.

## 2.4. Серологические методы диагностики микоплазмоза

### 2.4.1. Получение микоплазмозных антигенов и диагностических сывороток для РНИФ

Антигены для РНИФ готовили из выделенных от телят трехсуточных инактивированных на водяной бане при 70 °С - 30 мин культур (*M bovirhinis*, *M arginini* и *Ureaplasma sp*), которые отмывали от питательной среды путем центрифугирования при 6000 g 30 мин. Осадок после трехкратного ресуспензирования и последующего центрифугирования разводили до концентрации 1,7 млрд микробных клеток в 1 мл по бактериальному стандарту мутности (ГИСК им Л.А. Тарасевича). Кроликов разделили на три группы (по две головы на каждый штамм) и гипериммунизировали внутривенно восьмикратно возрастающими дозами (суммарная 19,55 млрд м.т.) в сочетании с подкожным

сочетании с подкожным введением иммуностимулятора левамизола по указанной в п 2 1 схеме

Синтез антител изучали в динамике на 7, 14, 21 и 30 сутки после гипериммунизации в реакции непрямой иммунофлуоресценции, которую ставили на предметных стеклах по общепринятой методике, учет реакции проводили в крестах, свечение менее чем на два креста считали отрицательным

На седьмой день после иммунизации антитела в РНИФ на все виды микоплазм выявляли в низких титрах 1 10 – 1 20 На 14-й день титр антител повысился с 1 10 до 1:640 на все вводимые антигены, а на 30-е сутки - достиг максимального уровня 1 640 – 1 2560

Таким образом, нами были получены три высокоактивные кроличьи сыворотки с диагностическим титром 1 640 – 1 2560 в РНИФ для индикации из биоматериала (бронхоальвеолярная слизь) больных телят и патологического материала посмертно *M bovirhinis*, *M arginini* и *Ureaplasma sp*

#### **2.4.1.1. Изучение специфичности и активности сывороток и антигенов в РНИФ**

На следующем этапе исследований определяли специфичность и активность полученных микоплазмозных сывороток и антигенов в РНИФ

Для этих целей применяли полученные нами антигены и кроличьи антимиоплазмозные сыворотки в разведениях 1 10 – 1 2560 Для изучения специфичности микоплазмозных антигенов в РНИФ применяли сыворотки против микоплазмоза, хламидиоза, лептоспироза, листериоза, сальмонеллеза, риккетсиоза и эшерихиоза в разведении 1 10

При этом установили высокую внутривидовую специфичность полученных микоплазмозных кроличьих сывороток в РНИФ, которые реагировали только с аналогичными антигенами Активность сыворотки достигала титра антител до уровня 1 1280 – 1 2560

Микоплазмозные антигены также показали высокую гетерологичную специфичность с сыворотками против хламидиоза, лептоспироза, листериоза, эшерихиоза и сальмонеллеза, с которыми они не реагировали в РНИФ Положительную реакцию отмечали только с аналогичными кроличьими антисыворотками

#### **2.4.2. Получение эритроцитарного диагностикума для реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)**

Формализированные 3%-ные эритроциты барана сенсибилизировали различными разведениями смеси трех антигенов микоплазм (1 5 – 1 80) в соотношении два объема антигена и один эритроцитов

Для контроля диагностикума проводили постановку РНГА макрометодом в объеме 0,5 мл в полистироловых пластинках с микоплазмозными (Г, А, У) и смешанной (Г + А + У) микоплазмозными сыворотками в разведениях от 1 10 до 1 2560 В качестве разбавителя применяли фосфатный буфер, рН - 6,4 При постановке реакции осуществляли соответствующие контроли

С тремя микоплазмозными сыворотками диагностикум реагировал на четыре креста до предельного титра (1 320), со смешанной против трех видов микоплазм

сывороткой - на три креста (1 640) С отрицательной сывороткой во всех разведениях и буферным физиологическим раствором реакция была отрицательной

При изучении специфичности микоплазмозного эритроцитарного диагностикума (МЭД) в РНГА установлено, что оптимальным разведением антигена для сенсibilизации формализированных эритроцитов является 1:10, при котором отсутствовали перекрестные реакции с хламидиозной, эшерихиозной и против инфекционного ринотрахеита сыворотками, тогда как при разведении антигена 1 5 РНГА с данными сыворотками была положительной С гомологичными микоплазмозными сыворотками с титром 1 20 отмечали реакцию на четыре креста при разведении антигена 1 10, на три креста - 1 20, на два креста - 1 40 Отсутствие реакции с микоплазмозными сыворотками регистрировали при использовании МЭД разведенного 1 80

Таким образом, полученный эритроцитарный диагностикум можно использовать для диагностики микоплазмоза телят, принимая за диагностический титр в РНГА разведение испытуемой сыворотки 1 20

#### **2.4.3. Сравнительная оценка диагностической ценности микробиологического и серологических (РНИФ, РНГА) методов диагностики микоплазмоза телят в производственных условиях**

Чувствительность микробиологического метода диагностики изучали в сравнении с серологическими методами (РНИФ, РНГА) с применением полученных нами сывороток и антигенов Материалами для исследований являлись пробы патологического материала от погибших, вынужденно убитых телят и абортированных плодов, бронхоальвеолярных смывов, сыворотки крови, внутрисуставной жидкости от телят из 17-ти хозяйств Омской области

Наиболее чувствительным диагностическим тестом является РНИФ, с помощью которой выявляется по результатам исследования сыворотки крови и бронхоальвеолярных смывов 79,4-85,3% больных микоплазмозом телят соответственно (табл. 4) А при исследовании бронхоальвеолярных смывов регистрируется на 5,9% больше больных животных и с более высоким уровнем антител, что свидетельствует о выработке, наряду с общим, «местного» тканевого иммунитета у телят

РНГА по чувствительности незначительно уступает РНИФ Так, с помощью данного теста при исследовании сыворотки крови и бронхоальвеолярных смывов выявлено в среднем по десяти хозяйствам 62,2 – 80,7% больных микоплазмозом телят, что на 17,2-4,6% соответственно меньше, чем в РНИФ Нами установлена закономерность, указывающая на более высокий уровень антител в бронхоальвеолярных смывах, чем в сыворотке крови, при этом количество реагирующих животных при исследовании бронхоальвеолярных смывов было на 18,5% больше

Вместе с тем, комплексное применение РНГА и РНИФ для исследования сыворотки крови и бронхоальвеолярных смывов позволяет более полно выявлять больных микоплазмозом телят Так, в РНИФ по результатам исследования сыворотки крови выявлено 79,4% телят, а при комплексном исследовании сыворотки крови и бронхоальвеолярных смывов с помощью данного теста зарегистрировано 81,5% больных животных Также в РНГА с сывороткой крови и в РНГА с бронхоальвеолярными смывами вместе выявлено 71% реагирующих на микоплазмоз телят, тогда как в РНГА с сывороткой крови реагировало только 62,2% животных

По результатам исследования бронхоальвеолярных смывов с помощью РНГА и РНИФ вместе зарегистрировано 84,5% реагирующих на микоплазмоз телят, а в одной РНГА только 80,7%

Однако в РНИФ с сывороткой крови дополнительно к РНГА было выявлено от 5% до 65% телят (в среднем 22,5%), в то же время в РНИФ с бронхоальвеолярными смывами дополнительно к РНГА обнаружено от 5% до 20% (в среднем 6%) животных

С помощью же РНГА при исследовании сыворотки крови удалось дополнительно к РНИФ выявить от 10% до 20% (в среднем 4%), реагирующих на микоплазмоз телят, а при исследовании бронхоальвеолярных смывов – до 10% (в среднем 2%)

При этом положительные результаты серологических исследований подтверждаются выделением микоплазм при микробиологических исследованиях проб бронхоальвеолярных смывов телят в 79,8% случаев, что указывает на высокую диагностическую ценность РНГА и РНИФ для диагностики микоплазмоза телят

При выборочном исследовании проб сыворотки крови и бронхоальвеолярных смывов от 100 клинически здоровых телят из данных хозяйств в РНГА и РНИФ результаты были отрицательными, что указывает также и на специфичность этих тестов

Таблица 4

Оценка диагностической ценности РНГА и РНИФ в производственных условиях при микоплазмозе телят

| Хозяйства            | Кол-во телят | РНИФ в %     |             | РНГА в %     |            | Микробиологический в % |
|----------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|------------|------------------------|
|                      |              | сыв-ка крови | бронх смывы | сыв-ка крови | бронх смыв |                        |
| 1 Большевик          | 20           | 67           | 90          | 35           | 70         | 90                     |
| 2 им Кирова          | 20           | 100          | 100         | 35           | 85         | 100                    |
| 3 Россия             | 20           | 75           | 85          | 70           | 80         | 90                     |
| 4 Новороссийский     | 10           | 80           | 80          | 60           | 80         | 80                     |
| 5 Русский хлеб       | 10           | 90           | 90          | 60           | 90         | 70                     |
| 6 Сосновское         | 10           | 70           | 90          | 70           | 90         | 50                     |
| 7 Некрасовский       | 18           | 72           | 78          | 72           | 72         | 78                     |
| 8 им Розы Люксембург | 10           | 100          | 100         | 90           | 100        | 100                    |
| 9 Нива               | 10           | 100          | 100         | 90           | 100        | 100                    |
| 10 Новоарцино        | 10           | 40           | 40          | 40           | 40         | 40                     |
| Всего                | 138          | 79,4         | 85,3        | 62,2         | 80,7       | 79,8                   |

## 2.5. Изыскание средств и методов лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции

### 2.5.1. Определение чувствительности полевых культур микоплазм к антибактериальным препаратам *in vitro*

При изыскании средств лечения животных при микоплазмоз-ассоциированной инфекции определяли чувствительность полевых культур микоплазм к антибактериальным препаратам методом серийных разведений

Наибольшей активностью *in vitro* в отношении культур, выделенных из респираторного тракта телят, обладали препараты тетрациклинового (тетрациклин, левотетрасульфид, тетра-триметосул - 74-87%, 27-67%, 39-65%) и фторхинолонового (энрофлоксацин, норфлоксацин - 46-82%, 49-75%) рядов и амоксицилин (38-54%), соответственно. Препараты как по отдельности, так и в различных сочетаниях, были испытаны в опытах при изучении схем лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции в производственных условиях.

### **2.5.2. Изучение различных схем лечения и лабораторных методов контроля их эффективности**

Действие различных схем лечения испытывали на 45 телятах с клиническими признаками бронхопневмоний, артритов, кератоконъюнктивитов и положительными результатами лабораторных исследований (табл. 5)

До лечения и через 10 дней после лечения исследовали сыворотку крови, бронхоальвеолярные смывы, фекальные массы и слизь из прямой кишки серологическими методами реакции прямой (РПИФ) и непрямой (РНИФ) иммунофлуоресценции и микробиологическими, с применением жидких и плотных питательных сред, для индикации и идентификации микоплазм. Критерием оценки эффективности схем лечения служили клинические признаки, сохранность телят и отсутствие или снижение количества животных микробоносителей после лечения.

#### **Опыт I ЗАО «им Кирова»**

Больных телят 1-3 мес. возраста разделили на 5 групп по 5 голов в каждой. Животных 4 опытных групп лечили по разным схемам, а контрольную - по традиционной схеме, применяемой в хозяйстве.

#### **Опыт II ЗАО «им Розы Люксембург»**

Аналогично первому опыту телят разделили на 4 группы по 5 голов в каждой. Животных двух опытных групп лечили по разным схемам, животных третьей (контрольной) группы не подвергали лечению и в четвертую (контрольную) входили здоровые животные.

При микоплазмоз-ассоциированной инфекции с возбудителями наиболее опасных в эпизоотическом плане болезней (лептоспироз, листериоз, пастереллез, диплококкоз) наиболее эффективными по отсутствию гибели телят, клинических признаков и остаточного микробоносительства по результатам лабораторных исследований (микробиологический, РНИФ и РПИФ) являются 6 и 7 схемы лечения, включающие в себя сочетанное применение амоксициллина с левотетрасульфидом и энрофлокса со стрептомицином.

Схемы лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции

| Группы ж-х | Характеристика групп                         | Применяемые препараты  | Продолжительность лечения (дней) |
|------------|--|--|----------------------------------|
| опыт 1     |  |  |                                  |
| 1-я        | Хлам + лепт + лист + салъм + паст + мик + эш | Амоксициллин (однократно)  | 10                               |
| 2-я        | Хлам + дипл + мик + эш                       | Тетратриметасул (двукратно с интервалом 3 дня)   | 10                               |
| 3-я        | Хлам + лепт + салъм + мик + эш               | Левотетрасульфин (двукратно с интервалом 3 дня)  | 10                               |
| 4-я        | Хлам + лепт + салъм + паст + мик + эш        | Энроксил (3 дня подряд)  | 10                               |
| 5-я        | Хлам + лепт + лист + салъм + паст + мик + эш | Контрольная группа, леченная по традиционной схеме, применяемой в хозяйстве (поливалентная сыворотка против сальмонеллеза, пастереллеза, парагриппа – 3, инфекционного ринотрахеита, миксоферон и тиланик) | 10                               |
| опыт 2     |  |  |                                  |
| 6-я        | Хлам + лепт + лист + дипл + паст + мик + эш  | Амоксициллин (двукратно с интервалом 24 часа) + Левотетрасульфин ПЭГ через 6 дней (двукратно с интервалом 3 дня)   | 15                               |
| 7-я        | Хлам + лепт + лист + дипл + паст + мик + эш  | Энрофлокс (трехкратно с интервалом 24 часа) + Стрептомицин через 6 дней (двукратно с интервалом 3 дня)   | 18                               |
| 8-я        | Хлам + лепт + лист + дипл + паст + мик + эш  | Контрольная не леченная группа   | -                                |
| 9-я        | Клинически здоровые животные                 | Контрольная интактная группа   | -                                |

Примечание хлам – хламидиоз, лепт – лептоспироз, лист – листериоз, салъм – сальмонеллез, мик – микоплазмоз, эш – эшерихиоз

По результатам производственного внедрения данных схем лечения в ЗАО «им Розы Люксембург» гибель телят, а также все экономические показатели ущерба уменьшились в три раза. Так фактический ущерб от падежа и недополучения живой массы снизился на 274323 руб., на одно заболевшее животное – на 56 руб., на одно животное стада – на 783 руб. Таким образом, был предотвращен экономиче-

ский ущерб на сумму 313506 руб Экономический эффект на один рубль ветеринарных затрат составил 20 рублей

## ВЫВОДЫ

1 Микоплазмоз-ассоциированная инфекция телят имеет широкое распространение в 13-ти хозяйствах (77%) Омской области из 17-ти подвергнутых эпизоотологическому обследованию

2 Жидкие и плотные микоплазмозные питательные среды ФГУ НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора (г Омск) обладают специфичностью и чувствительностью к микоплазмам, выделяемым из бронхоальвеолярных смывов и патологического материала у телят В них выявляются микоплазмы в 50-70% случаев соответственно Они могут применяться для прижизненной и посмертной микробиологической диагностики

3 Выделенные у телят микоплазмы *M arginini*, *Ureaplasma sp* по биохимическим свойствам аналогичны таковым, изолированным у маточного поголовья из секрета урогенитального тракта, что обусловлено их передачей от коров-матерей Дополнительно выделена *M bovis*

4 Антигены, полученные из полевых штаммов микоплазм и аналогичные им кроличьи сыворотки, обладают высокой активностью и специфичностью в РНИФ для проведения серологических исследований на микоплазмоз, которая выявляет 79,4-85,3% больных телят

5 Разработан эритроцитарный антиген, который может использоваться в РНГА для дополнительной диагностики микоплазмоза РНГА по чувствительности незначительно уступает РНИФ и выявляет в аналогичных исследованиях 62,2-80,7% больных телят Оба метода дополняют друг друга и позволяют обнаружить большее количество больных животных При этом серологические данные подтверждаются выделением микоплазм при микробиологическом исследовании бронхоальвеолярных смывов телят в 79,8% случаев, что указывает на высокую диагностическую ценность РНГА и РНИФ при микоплазмозе телят

6 Полевые культуры микоплазм, выделенные от молодняка крупного рогатого скота, обладают высокой чувствительностью к препаратам тетрациклинового (74-87%), а также фторхинолонового (46-82%) рядов

7 При лечении микоплазмоз-ассоциированной инфекции телят наиболее эффективными являются схемы с сочетанным применением амоксициллина и комплексного препарата левотетрасульфидина, энрофлокса и стрептомицина Экономический эффект от применения предложенных рациональных схем диагностики и лечения составил 20 рублей на один рубль затрат

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Для ветеринарной практики предложены рациональные схемы диагностики и лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции с учетом всех микроорганизмов, участвующих в инфекционном процессе, которые подробно изложены в методических рекомендациях «Комплексная система мер борьбы и профилактики при ассоциативных инфекционных болезнях животных» и «Диагностика и лечение при микоплазмоз-ассоциированной инфекции телят»

Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедрах эпизоотологии и инфекционных болезней, микробиологии, вирусологии и иммунологии в учебных и научно-исследовательских учреждениях ветеринарной медицины.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1 Красиков, А П Ассоциативные формы проявления микоплазмоза у телят / А П Красиков, А Н Свиридова // Практик – 2007 - № 1 – С 72-75
- 2 Красиков, А П Диагностика ассоциативного микоплазмоза телят при помощи бактериологического и серологического методов / А П Красиков, А Н Свиридова // Профилактика, диагностика и лечение инфекционных болезней, общих для людей и животных сб науч тр / Ульяновская гос с х академия – Ульяновск, 2006 – С 240-243
- 3 Красиков, А П Диагностика и лечение при респираторной микоплазмоз-ассоциированной инфекции телят / А П Красиков, А Н Свиридова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины сб науч тр / ИВМ ОмГАУ – Омск, 2007 – С 107-111
- 4 Красиков, А П Микоплазмоз телят и его ассоциативные формы проявления/ А П Красиков, А Н Свиридова // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях сб науч тр / Краснодарский НИВИ – Краснодар, 2006 – С 163-166
- 5 Распространенность ассоциативных инфекционных болезней крупного рогатого скота в хозяйствах Омской области / Красиков А П, Малошевич В Э, Свиридова А Н, Наконечный О И. // Актуальные проблемы ветеринарной медицины сб науч тр / ИВМ ОмГАУ – Омск, 2007 – С 118-121.
- 6 Свиридова, А Н Ассоциативный микоплазмоз телят и его диагностика / А Н Свиридова // Состояние и перспективы аграрной науки Казахстана и Западной Сибири сб науч тр / Северо-Казахстанского НИИ животноводства и ветеринарии – Бишкуль, 2007 – С 291-297.
- 7 Свиридова, А Н Схемы лечения телят и лабораторные методы контроля их эффективности при микоплазмоз-ассоциированной инфекции / А Н Свиридова // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки – 2007 - №6 - С 69-74
- 8 Свиридова, А Н Схемы лечения телят при микоплазмоз-ассоциированной инфекции / А Н Свиридова // Патология сельскохозяйственных животных и пути ее профилактики сб науч тр / ВНИИ БТЖ СО РАСХН – Омск, 2007 – С 147-151

*На правах рукописи*

**Свиридова Анна Николаевна**

**ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ ТЕЛЯТ  
ПРИ МИКОПЛАЗМОЗ-АССОЦИИРОВАННОЙ  
ИНФЕКЦИИ**

16 00 03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук**

**Омск – 2007**

---

Сдано в набор 02.10.07. Подписано в печать 02.10.07  
Формат 60x84/16 Гарнитура Times New Roman  
Усл. печ. л. 1,00 Печать оперативная. Тираж 100 экз.  
Лицензия ЛТ № 020074

Отпечатано с оригинал-макета в типографии ООО «Вариант-Омск»  
644043, г. Омск, ул. Коммунистическая, 45 Тел /факс 25-14-34